

Carla Cristina Bauermann Brasil
(Organizadora)

4

# ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE

Atena
Editora
Ano 2021



Carla Cristina Bauermann Brasil
(Organizadora)

# Alimentos, Nutrição e Saúde 4

Atena Editora
Ano 2021

**Editora chefe**
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
**Assistentes editoriais**
Natalia Oliveira
Flávia Roberta Barão
**Bibliotecária**
Janaina Ramos
**Projeto gráfico**
Natália Sandrini de Azevedo
Camila Alves de Cremo
Luiza Alves Batista
Maria Alice Pinheiro
**Imagens da capa**
iStock
**Edição de arte**
Luiza Alves Batista
**Revisão**
Os autores








Atena Editora
Ano 2021

Ciências Biológicas e da Saúde

Atena
Editora
Ano 2021

Ciências Biológicas e da Saúde

Atena
Editora
Ano 2021

Atena
Editora
Ano 2021

Alimentos, nutrição e saúde 4

**Diagramação:** Maria Alice Pinheiro
**Correção:** Thiago Meijerink
**Indexação:** Gabriel Motomu Teshima
**Revisão:** Os autores
**Organizadora:** Carla Cristina Bauermann Brasil

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

A411 Alimentos, nutrição e saúde 4 / Organizadora Carla Cristina Bauermann Brasil. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-402-0
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.020212308

1. Nutrição. 2. Saúde. I. Brasil, Carla Cristina Bauermann (Organizadora). II. Título.
CDD 613

**Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166**

**Atena Editora**
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2021

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce,* ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



Atena
Editora
Ano 2021

# APRESENTAÇÃO

A presente obra ‘’Alimentos, Nutrição e Saúde’’ publicada no formato *e-book*, traduz o olhar multidisciplinar e intersetorial da Alimentação e Nutrição. Os volumes abordarão de forma categorizada e interdisciplinar trabalhos, pesquisas, relatos de casos e revisões que transitam nos diversos caminhos da Nutrição e Saúde. O principal objetivo desse *e-book* foi apresentar de forma categorizada e clara estudos desenvolvidos em diversas instituições de ensino e pesquisa do país em quatro volumes. Em todos esses trabalhos a linha condutora foi o aspecto relacionado à avaliação antropométrica da população brasileira; padrões alimentares; avaliações físico-químicas e sensoriais de alimentos e preparações, determinação e caracterização de alimentos e de compostos bioativos; desenvolvimento de novos produtos alimentícios e áreas correlatas.

Temas diversos e interessantes são, deste modo, discutidos nestes volumes com a proposta de fundamentar o conhecimento de acadêmicos, mestres e todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área da Alimentação, Nutrição, Saúde e seus aspectos. A Nutrição é uma ciência relativamente nova, mas a dimensão de sua importância se traduz na amplitude de áreas com as quais dialoga. Portanto, possuir um material cientifico que demonstre com dados substanciais de regiões específicas do país é muito relevante, assim como abordar temas atuais e de interesse direto da sociedade. Deste modo a obra "Alimentos, Nutrição e Saúde’’ se constitui em uma interessante ferramenta para que o leitor, seja ele um profissional, acadêmico ou apenas um interessado pelo campo das ciências da nutrição, tenha acesso a um panorama do que tem sido construído na área em nosso país.

Uma ótima leitura a todos(as)!

Carla Cristina Bauermann Brasil

## SUMÁRIO

# CAPÍTULO 1

## TEOR PROTEICO EM ALIMENTOS PLANT-BASED: ESTUDO DE CASO SOBRE CORRELAÇÕES ENTRE BACALHAU, HAMBÚRGUER E "LEITE" VEGETAIS

*Data de aceite: 01/08/2021*

**Yanni Sales Caruso**
http://lattes.cnpq.br/9594901554077661

**Luiz Eduardo R. de Carvalho**
Professor da Faculdade de Farmácia da UFRJ
Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/2114756598039200

**RESUMO:** Alimentos "plant-based*"* vêm sendo anunciados como alternativas a produtos de origem animal. Pesquisando-se em supermercados do Rio de Janeiro, em dezembro de 2020, encontrou-se seis marcas "plant based" de hambúrguer, carne moída, quibe, almôndega e ainda frango e bacalhau; e seis marcas de bebidas leitosas. Foram examinadas a identidade e qualidade desses novos alimentos*,* adotando-se metodologia qualitativa, de Estudo de Casos (YING, 2005). Quanto à identidade, observou-se: proteína texturizada de soja, glúten, ervilha e grão de bico. Nas *bebidas,* extrato de soja e proteína de ervilha. Se o bacalhau original contém 22,8% de proteínas, esse teor cai para 7,0% no "bacalhau vegetal". Se uma marca de frango vegetal contém 7% de proteínas, uma outra contém 22,5%. No caso dos hambúrgueres, enquanto os cárneos variam entre 15 e 20%, os "hambúrgueres vegetais" variam entre 6,2 e 18,3%. A "carne moída vegetal" (10,3% de proteínas), assim como a almôndega (10,1%), o quibe (13,0%), a linguiça (7,1%), todos "plant based", apresentam também largas variações em proteinas, entre si e em relação aos cárneos. E se o leite de vaca fornece cerca de 3,2% de proteínas, a bebida vegetal líder de mercado, anunciada como à base de extrato de soja, contém 3,2% apenas quando na modalidade "tradicional", sem sabor de fruta, pois nesta última não passa de 0,6%, cinco vezes menos que no leite; bebidas de amêndoas fornecem não mais que 0,2% de proteínas. Conclui-se que essas alternativas ainda não podem ser consideradas substitutas nutricionais, mas apenas gastronômicas, dos produtos de origem animal. Para que os produtos "plant-based*"* possam se tornar uma alternativa nutricional, exige-se revisar as formulações, incrementando ingredientes proteicos. Atos regulatórios, por outro lado, são inadiáveis para dar suporte aos fabricantes, instituindo parâmetros que orientem e obriguem a equivalência do teor proteico nos produtos "plant-based".

**PALAVRAS - CHAVE**: *Plant-based*, teor proteico, vegan, bebidas lácteas, simulacros cárneos.

### PROTEIN CONTENT IN PLANT-BASED FOODS: CASE STUDY ON CORRELATIONS BETWEEN COD, HAMBURGER AND PLANT MILK

**ABSTRACT**: Plant-based foods have been advertised as alternatives to animal products. Researching three supermarket chains in the city of Rio de Janeiro, between August and December 2020, it was found six different brands acting in the vegetarian line for "meat", including hamburger, ground beef, kibbeh, meatballs, and even codfish and chicken; and six brands of milky beverages. The identity and quality of these foods were examined, comparing their protein contents

to the food products they seek to mimic, adopting a qualitative Case Study methodology (YING, 2005). As regards identity, the results show a wide variety of protein sources in the different meat substitutes, including textured soy protein, pea and chickpea flour, and gluten. To these are added powdered beetroot, raw carrots, green corn, tomatoes, peppers, wheat (and breadcrumbs) flour, starch, malt, vegetable fat, various seasonings, stabilizers, thickeners, antioxidants, red beetroot coloring, and flavorings, as well as nutrients such as iron and vitamins C and B12. The ingredients found in the vegetable dairy drinks were soy extract, pea protein, chicory fiber, cabbage, sugar, sucralose sweetener, minerals (calcium and zinc), coconut and sunflower oil, vitamins (E, B6, A, folic acid, D2, and B12), along with various additives. The data collected was organized on excel spreadsheet, with the products in the rows and the nutritional contents in the columns. Many variations were observed not only between the original products (meat) and the alternative products (vegetables) but also between the different brands of vegetable products. If the codfish contains 22.8% protein, this content drops to 7.0g in the "vegetable cod". If one brand of vegetable chicken contains 7% protein, another contains 22.5%. In the case of hamburgers, it is no different, since while meat varies between 15 and 20% from one brand to another, "vegan hamburger" varies between 6.2 and 18.3%%. The "vegan ground meat" (10.3%), as well as the meatball (10.1%), the kibbeh (13.0%), the sausage (7.1%), all "plant-based", also show wide variations among themselves and in relation to the protein content of the meat. While cow's milk provides around 3.2% protein, the leading vegetable drink, advertised as being based on soya extract, only contains 3.2% in the "traditional" version, without fruit flavor, as the other, more widely sold, contains only 0.6%, or five times less than milk. And almond drinks provide no more than 0.2% protein. The conclusion is that these current vegetarian alternatives cannot yet be considered substitutes for animal products, if examined in nutritional terms, and are limited to gastronomic alternatives. For "plant-based" products to become a real nutritional alternative, it is necessary to review formulations, focusing on the increase of proteinic ingredients. Regulatory acts, on the other hand, are unavoidable to provide support to manufacturers, establishing parameters to guide and enforce the equivalence of protein content in these products.
**KEYWORDS**: Plant-based, protein content, vegan, dairy drinks, meat simulacrum.

## INTRODUÇÃO

Alimentos “plant based*”* vêm sendo anunciados, mundialmente, como alternativas a produtos de origem animal. No Brasil, no mercado e na mídia, bacalhau vegetal, coxinha de galinha vegetal, almôndegas, frango vegetal, carne moída vegetal, estão presentes em um cenário onde, até recentemente, se ofertava aos consumidores, nessa categoria “produtos cárneos sem carne”, apenas bifes ou hambúrgueres vegetais, de soja ou de glúten.

O lançamento dessas linhas de alimentos vegetais, agora produzidos por grandes indústrias internacionais, foi acompanhado de pesados investimentos em publicidade, ocupando largos e nobres espaços, por vários dias, nos jornais e na TV, Na figura 1, por exemplo, estampa-se a publicidade nos jornais O Globo, Folha de São Paulo e O Estado de São Paulo[1].

1 Linha Incrível Seara, jornal O Globo, edição de 16 de março de 2020, pag. 5. Planta Grelhada do Burger King, jornal O Globo, edição de 10 de outubro de 2019, pag. 1ª. Revolution MARFRIG, de 8 de dezembro de 2019, pag1B.




Figura 1 - Anúncios de página inteira nos principais jornais do País informam do lançamento dos “plant-based” simulacros de derivados cárneos.

Frente a este fenômeno, idealizou-se esta pesquisa, com o objetivo de examinar identidade e qualidade – em termos de proteínas - dos alimentos *plant-based,* comercializados como alternativas para substituição do leite de vaca e do hambúrguer de carne vermelha, de forma a oferecer subsídios para a produção de atos regulatórios por parte dos organismos encarregados da implementação da Vigilância Sanitária e da formulação da Política Nutricional.

Para tal “objeto de pesquisa”, assumiu-se, como indagação: “os alimentos *plant-based*, ofertados com intensa campanha publicitária, no mercado brasileiro, oferecem teores de proteínas e micronutrientes equivalentes aos encontrados nos respectivos produtos, quando são de origem animal? A hipótese estabelecida, para ser testada no estudo, é que a prioridade assumida, na formulação desses alimentos, foi o conjunto de indicadores gastronômicos, ou sensoriais, colocando a identidade nutricional em segundo plano, senão desprezando-a largamente.

Somando-se aos produtos artesanais, de pequenas empresas, esses grandes investimentos foram realizados, a partir de 2020, por indústrias líderes do mercado, como a Marfrig, a Seara e a BRF. Empresas menores, como a Fazenda Futuro, para resistir à pesada concorrencialidade, buscaram reforçar o *portfolio*, incluindo, dentre outros, produtos diferenciados, fora do conjunto convencional da carne vermelha, como é o caso, por exemplo, do “frango plant-based”.

A multinacional anglo-holandesa Unilever, um dos maiores grupos de bens de consumo do mundo, está engrossando a lista de empresas de todos os portes que decidiram apostar no mercado de “carnes vegetais” no Brasil, lançando sua linha “The Vegetarian

Butcher", à base de proteína texturizada de soja, idealizada no início dos anos 2000, e antes já lançada em outros 30 países. De início, o projeto está orientado para o "Food service", oferecendo hambúrgueres, *nuggets*, carne moída e almôndegas, assumindo como grupo-alvo, além dos vegetarianos e veganos, também os carnívoros e amantes da carne, com interesse em consumir proteína vegetal, para diminuir o consumo de carne, por questões ligadas à sustentabilidade[2].

## METODOLOGIA

Os dados necessários ao desenvolvimento desta Pesquisa foram obtidos dos repositórios virtuais de documentos da Comissão do *Codex Alimentarius,* da coleção de atos regulatórios da ANVISA e do Ministério da Agricultura (incluindo instâncias já extintas, como a Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, do Conselho Nacional de Saúde). Foram também utilizados documentos-técnicos, relatórios e pareceres extraídos dos arquivos do Ministério da Saúde e, em especial, uma coleção de rótulos do acervo do LabConsS-DPNA/FF-UFRJ, o qual foi ampliado e enriquecido com rótulos de novos produtos "Plant Based" coletados no decorrer desta investigação.

Para Alani (2010), a metodologia Estudo de Casos representa uma estratégia qualitativa e indutiva, onde o real é considerado como algo opaco, ou seja, os fatos não se exprimem *a priori*. E para que se possa "ver" algo, mostra-se necessário explorá-los, analisá-los, impregnar-se dos mesmos e, depois, distanciar-se deles.

Yin (2005) defende que o estudo de caso e os experimentos não almejam representar uma "prova", sendo que a meta do investigador seria expandir e generalizar (generalização analítica) e não enumerar frequências (generalização estatística). Outras contribuições metodológicas importantes, para Estudo de Casos, aqui adotadas, são as de Gerring (2004), Flick (2009) e Gil (2009).

As marcas selecionadas, para compor a amostra da pesquisa, são aquelas que compõem o conjunto de todos os produtos encontrados no mercado do Rio de Janeiro. Ou seja, não são "cases" selecionados, mas operados a partir de um critério de "universalidade" (no consumo), diversidade (de marcas), correlação automática (com produto tradicional). E, se todos os produtos foram objeto do estudo, a tabulação aqui estampada optou, por motivos de espaço e objetividade, restringir-se, basicamente, às bebidas 'leitosas" e aos hambúrgueres, conforme observa-se a seguir.

Como referencial teórico, para esta pesquisa que se situa na área de Bromatologia, mas demanda interpretações da Linguística e da Semiologia, são indispensáveis as contribuições Austin (2010) sobre Atos de Fala, Baudrillard (2009) e seu conceito de hiper-realidade e desaparecimento do real, Bauman (2001) e sua teoria que trata das identidades líquidas e também Emile Durkheim (1978), sobre as regras do método sociológico, que

2 Jornal Valor Econômico, edição de 9 de outubro de 2020, pag. B-11.

demanda o estabelecimento de uma definição sobre o “objeto”, seguido dos cuidados para que a pesquisa seja realmente sobre esse objeto e não sobre as opiniões do pesquisador acerca do objeto.

## RESULTADOS

Pesquisando-se em três redes de supermercados do município do Rio de Janeiro, entre agosto e dezembro de 2020, encontrou-se seis diferentes marcas atuando na linha vegetariana para “cárneos”, incluindo hambúrguer, carne moída, quibe, almôndega e ainda bacalhau e frango; e seis marcas de bebidas leitosas. Os dados disponíveis nos rótulos desses produtos foram coletados e tabulados para se compor as duas tabelas abaixo, com a composição dos alimentos de origem animal sendo obtida a partir da TBCA[3].

| Produtos | Proteínas (g) |
|---|---|
| **A tal da Castanha - Castanha de Caju** | 3,0 |
| **AdeS Amêndoas** | 0,9 |
| **AdeS Soja** | 6,4 |
| **Almond Breeze** | 0,9 |
| **Lealt Amêndoas** | 1,8 |
| **Natuterra – Amêndoas** | 1,3 |
| **Natutera – Coco e Aveia** | 0,7 |
| **Natuterra – Aveia sem açúcar** | 0,8 |
| **Naveia – Aveia** | 1,1 |
| **Nesfit Original** | 7,0 |
| **NotMilk Integral** | 3,2 |
| **Scotti Rice Original** | 0,4 |
| **Silk Amêndoas – sem açúcar** | 0,7 |
| **VidaVeg Amêndoas** | 3,0 |
| **Leite de Vaca** | 6,7 |

Tabela 1. Composição de Proteínas em Bebidas *Plant-Based* em comparação ao leite por Porção (200mL).

3 Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.1. São Paulo, 2020. Acessado em: 20 de janeiro de 2021. Disponível em: http://www.fcf.usp.br/tbca

| Produtos | Proteínas (g) |
|---|---|
| **Bacalhau Seara Vegetal** | 7 |
| **Hambúrguer Fazenda Futuro** | 13,7 |
| **Hambúrguer Seara Incrível Burger** | 17,5 |
| **Hambúrguer de Quinoa Amazonika** | 6,1 |
| **Bacalhau** | 12,35 |
| **Hambúrguer de Carne Sadia** | 15,0 |
| **Hambúrguer Seara Gourmet Tradicional (Carne Bovina)** | 18,7 |
| **Hambúrguer Tradicional Seara Texas Burger** | 17,5 |

Tabela 2. Composição Centesimal de Proteínas em Produtos *Plant-Based* e Cárneos.

Quanto à identidade, os resultados apontam uma larga variedade de fontes proteicas, nos diferentes substitutos cárneos, incluindo proteína texturizada de soja, farinhas de ervilha, de grão de bico e de glúten. A estas se somam beterraba em pó, cenoura in natura, milho verde, tomate, pimentões, farinha de trigo (e de rosca), amido, malte, gordura vegetal, condimentos diversos, estabilizantes, espessantes, antioxidantes, corante vermelho de beterraba, e aromas, além de nutrientes como ferro e vitamina C e B12.

Já os ingredientes encontrados nas *bebidas lácteas vegetais* foram extrato de soja, proteína de ervilha, fibra de chicória, repolho, açúcar, edulcorante sucralose, minerais (cálcio e zinco), óleo de coco e girassol, vitaminas (E, B6, A, ácido fólico, D2 e B12), junto com aditivos diversos.

Observa-se grandes variações não apenas entre os produtos originais (cárneos) e os produtos alternativos (vegetais), mas também entre as diferentes marcas dos produtos vegetais. Se o bacalhau marítimo contém 22,8% de proteínas, esse teor cai para 7,0g no “bacalhau vegetal”. Se uma marca de frango vegetal contém 7% de proteínas, uma outra contém 22,5%.

No caso do hambúrguer não é diferente, pois enquanto o cárneo varia entre 15 e 20% de uma marca para outra, o “hambúrguer vegetal” varia entre 6,2 e 18,3%%. A “carne moída vegetal” (10,3%), assim como a almôndega (10,1%), o quibe (13,0%), a linguiça (7,1%), todos “plant based”, apresentam igualmente largas variações entre si e em relação ao teor proteico da carne.

As bebidas leitosas vegetais apresentam situação muito similar, pois se o leite de vaca fornece cerca de 3,2% de proteínas, a bebida vegetal líder de mercado, anunciada como à base de extrato de soja, contém 3,2% apenas quando na modalidade “tradicional”, sem sabor de fruta, pois nesta outra, que é mais vendida, não passa de 0,6%, ou cinco vezes menos que o leite. E bebidas de amêndoas fornecem não mais que 0,2% de proteínas.

## CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A partir dos “achados” observacionais e documentais, conclui-se que essas atuais alternativas vegetarianas ainda não podem ser consideradas substitutas dos produtos de origem animal, se examinadas em termos nutricionais, limitando-se a se oferecer como alternativa gastronômica. Para que os produtos “plant-based*”* possam se tornar, de verdade, uma alternativa nutricional, exige-se uma revisão nas formulações, com foco no incremento de ingredientes ricos em proteínas, ao mesmo tempo que se cuide de um incremento também no valor biológico da proteína final.

Atos regulatórios, por outro lado, são inadiáveis para dar suporte aos fabricantes, instituindo parâmetros que orientem, parametrizem e obriguem a equivalência do teor proteico nesses produtos. Ou, em outras palavras:

- porque teor proteico, no hambúrguer cárneo, varia entre 15 e 20% de uma marca para outra, enquanto o *plant based* varia entre 6,2 e 18,3%%.
- porque a “carne moída vegetal” (10,3%) - assim como a almôndega (10,1%), o quibe (13,0%), a linguiça (7,1%), todos “plant based” - apresenta também largas variações entre as marcas e deficiência em relação ao teor proteico da carne.
- porque as bebidas leitosas vegetais apresentam situação muito similar, pois se o leite de vaca fornece cerca de 3,2% de proteínas, a bebida vegetal líder de mercado, anunciada como à base de extrato de soja, chega a esses mesmos 3,2% apenas quando na modalidade “tradicional”, sem sabor de fruta, pois nesta outra, que é mais vendida, não passa de 0,6%, ou cinco vezes menos que o leite;
- porque as bebidas de amêndoas fornecem não mais que 0,2% de proteínas;
- e ainda porque essas proteínas vegetais oferecem um valor biológico muito abaixo da caseína, da lactoalbumina e da lactoglobulina do leite, conclui-se que:
- 1. Essas alternativas vegetarianas, com as formulações atuais, ainda não podem ser consideradas substitutas dos produtos de origem animal, se examinadas em termos nutricionais, limitando-se a servir como alternativa gastronômica;
- 2. Para que os produtos “plant-based*”* possam se tornar, de verdade, uma alternativa nutricional, exige-se revisar as formulações, com foco no incremento de ingredientes proteicos;
- 3. Atos regulatórios são inadiáveis para dar suporte aos fabricantes, instituindo parâmetros que orientem e obriguem a equivalência do teor proteico nesses produtos de imitação.

## REFERÊNCIAS

ALAMI S. **Os Métodos Qualitativos.** 7.ed. Petrópolis: Ed Vozes, 2010.

AUSTIN J. **Como hacer cosas com palavras**. 9. ed. Madrid (Espanha): Paidós, 2010.

________________ **Por qué todo no há desaparecido aún?** Buenos Aires: Ed. Zorzal, 2009.

BAUMAN Z. **Modernidade Líquida**. Rio de Janeiro: Ed. Zahar, 2001.

DURKHEIM E. **As regras do método sociológico.** 9. ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1978.

FIBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Tabela de Composição de Alimentos**. Rio de Janeiro, 1977.

Flick, U. **Iintrodução à pesquisa qualitativa.** 3a. Edição. Artmed-Bookman, Porto Alegre, 2009, 405p. ISBN 978-85-363-1711-3

GERRING J. What Is a Case Study and What Is It Good for? **The American Political Science Review**, v. 98, n. 2, p. 341-354, 2004.

GIL A. C. **Estudo de Caso**. São Paulo: Ed. Atlas, 2009.

MARTINS G. A. **Estudo de Caso: uma estratégia de pesquisa**. 2ª ed. São Paulo: Ed. Atlas. 2008.

YIN R. K. **Estudo de casos: planejamento e métodos**. 3ed. Porto Alegre: Ed. Bookman, 2005.

# CAPÍTULO 2

# COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA TECNOLOGIA ULTRAVIOLETA E TECNOLOGIA CONVENCIONAL EM ASPECTOS DE QUALIDADE DE FOLHAS DE COUVE

*Data de aceite: 01/08/2021*

**Sidnei Macedo Pereira Filho**
Graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/2121656711320263

**Iasmim Pereira de Moraes**
Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/3481977998844836

**Leticia Cabrera Parra Bortoluzzi**
Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/2709412886863439

**Márcia Regina Ferreira Geraldo-Perdoncini**
Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá.
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/3472759706650142

**Stéphani Caroline Beneti**
Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/9251293083274153

**Roberto Ribeiro Neli**
Doutor em Engenharia Elétrica pela Universidade Estadual de Campinas
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/8782007018929906

**Leila Larissa Medeiros Marques**
Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Maringá
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/5674435305693604

**Fábio Henrique Poliseli-Scopel**
Doutor em Ciências e Tecnologia de Alimentos pela Universitat Autònoma de Barcelona
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Campo Mourão - PR, Brasil
http://lattes.cnpq.br/5421263910253032

**RESUMO:** O consumo de alimentos frescos tem crescido juntamente com a tendência de uma alimentação mais saudável. Nesta área, as hortaliças como a couve se destacam por suas propriedades nutricionais. Tratando-se de uma matriz alimentar que não passa por grandes processamentos e é muitas vezes consumida in natura, a qualidade microbiológica de folhas de couve é de extrema importância e está

relacionada à segurança e vida útil do produto. A irradiação com luz UV-C, conhecida por seu poder de danificar o DNA de microrganismos, é uma das alternativas para diminuição da carga microbiana e se apresenta como alternativa às tecnologias convencionais que utilizam de agentes químicos para promover a sanitização. O presente estudo comparou o efeito da aplicação de tratamento com LEDs UV-C e o tratamento convencional (imersão da folha em solução de hipoclorito de sódio) utilizado em folhas de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Contagens de microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios, o conteúdo de compostos fenólicos totais e clorofilas a/b foram avaliados utilizando o teste de Tukey a 5% de significância. O resultado alcançado para a inativação microbiana foi positivo, sendo observada a efetividade da tecnologia LED UV-C na redução da contagem de microrganismos indicadores da qualidade e higienização do alimento. Os resultados obtidos para as análises físico-químicas estão de acordo com o observado em estudos que visam viabilizar esta tecnologia, embora outros levantamentos (incluindo testes com microrganismos específicos) devem ainda ser conduzidos para solidificar a viabilidade do uso da tecnologia.
**PALAVRAS - CHAVE**: Ultravioleta; LED; Sanitização; Couve; Hortaliças; Novas tecnologias.

## COMPARISON OF ULTRAVIOLET LEDS AND CONVENTIONAL TECNHOLOGIES EFFECTS ON QUALITY ASPECTS OF KALE LEAVES

**ABSTRACT:** The consumption of fresh and nutritious food has become a common practice in people's lives, especially with the overall growth of the healthy lifestyle tendency. In this field, leafy vegetables stand out due to their many nutritious properties. As a food that does not undergo heavy processing and is many times consumed raw, microbiological quality of kale leaves is extremely important and can be related to the product's safety and also its shelf life. Ultraviolet irradiation, known for its DNA-damaging potential, is one of the many alternatives that aim to reduce microbial load while maintaining food safety. It can be seen as an alternative to commonly-used technologies that rely on chemical agents to sanitize vegetables in general. The present study compared the effect of UVC LED treatment and a conventional sanitizing method (soaking vegetables in sodium hypochlorite solution) applied to kale leaves (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Mesophile and psychrotrophs counts, as well as total phenolic and clorophylls a/b content were evaluated using Tukey's test to a 5% significance level. The microbiological results were positive, with LED UV-C treatment being effective in reducing microbiological counts of quality indicators. The physical chemical results are in accordance with the results observed in studies that seek to make the technology viable, even though many other evaluations (including tests with specific microorganisms) must be conducted to solidify the usage of UV-C technology.
**KEYWORDS**: Ultraviolet; LED; Sanitization; Kale; Vegetables; New technologies.

## 1 | INTRODUÇÃO

No atual cenário de tendências à alimentação saudável, os produtos frescos vêm ganhando cada vez mais importância, com destaque para o mercado de hortaliças. Este tipo de produto tem a função de garantir o bom funcionamento do organismo, fornecendo componentes importantes como vitaminas, minerais, fibras, antioxidantes e água (ROCHA

*et al.*, 2014).

Consideram-se alimentos *in natura* aqueles obtidos diretamente de plantas ou animais, sem sofrer qualquer tipo de alteração após deixar a natureza. Estes alimentos, porém, antes de serem comercializados, passam por etapas como limpeza, remoção de partes não comestíveis e refrigeração (BRASIL, 2014).

A couve-de-folha, também conhecida como couve-comum ou couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var*. acephala*) se origina no continente europeu e vem ganhando destaque na alimentação do consumidor devido, principalmente, às recentes descobertas em relação às suas propriedades nutricionais e medicinais. Quando comparada a outras hortaliças folhosas, apresenta maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, iodo, niacina e vitaminas A e C (TRANI *et al.*, 2015).

O alimento seguro é, entre outras características, aquele livre de microrganismos causadores de doenças, como infecções alimentares, toxinfeccções e intoxicações (SANTOS *et al.*, 2015). Em hortaliças, as alterações microbiológicas estão relacionadas a fatores como ambiente, manipulação, umidade, temperatura, atmosfera e acidez. Entretanto, a manipulação inadequada é o principal vetor de contaminação por patógenos (PARK *et al.*, 2018).

Comumente, a sanitização ou higienização, procedimento realizado com o objetivo de reduzir a contaminação superficial das folhas de hortaliças, é feita através de detergentes químicos específicos. Questiona-se, porém, a utilização destes produtos químicos, uma vez que possivelmente deixam resíduos nos alimentos, o que também impactaria negativamente na saúde do consumidor (KIM *et al.*, 2013).

Em busca de unir a eficiência da redução microbiana com a qualidade dos alimentos, sugere-se o uso de tecnologias alternativas de processamento de alimentos (KIM *et al.*, 2013). Entre estas tecnologias, está a radiação ultravioleta (UV), que comprovadamente reduz o crescimento microbiano, sendo amplamente utilizada para reduzir contaminações em hospitais, tratamentos de água e alimentos frescos. A luz UV divide-se em três regiões: UV-C (200 a 280 nm), UV-B (280 a 320 nm) e UV-A (320-400 nm). Nas regiões de comprimentos de onda mais curtos, a luz UV tem ação germicida pois afeta as ligações que formam o DNA dos microrganismos, provocando a inativação deste grupo (BEGUM *et al.*, 2009).

Entre as vantagens da luz UV-C, estão a capacidade de manutenção das características sensoriais do produto, ausência de resíduos no tratamento e baixo custo operacional. Adicionalmente, o tratamento UV, ao ser combinado com a estocagem a baixas temperaturas, permite aumento da vida de prateleira de produtos frescos (KIM *et al.*, 2013).

Desta forma, neste trabalho será comparado o efeito da aplicação de luz ultravioleta, a partir de lâmpadas de LED, e o tratamento convencional em folhas de couve, analisando parâmetros microbiológicos e no conteúdo de clorofila e compostos fenólicos em ambos os tratamentos.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Amostragem

As amostras de couve foram adquiridas em mercado na área comercial da cidade de Campo Mourão – PR e seguiram para as análises em laboratório.

### 2.2 Tratamento das amostras e condições de estocagem

Para o tratamento com LED UV-C, a amostra foi exposta à iluminação de quatro LEDs no comprimento de onda de 265 nm e 280 nm (potência de 200 mW), sendo 10 minutos para cada intensidade, totalizando 20 minutos de tratamento. O material tratado foi posicionado a 8,5 cm dos LEDs superior e inferior e a 5 cm dos LEDs laterais e da parede de fundo (Figura 1).

O tratamento de sanitização convencional foi conduzido de acordo com o descrito por Silva, Medeiros e Pires (2015). O vegetal foi submerso, durante 15 minutos, em solução de cloro a 200 ppm, antes de ser enxaguado para a remoção de resíduos. Para preparar a solução sanitizante, utilizou- se hipoclorito de sódio a 2%.



**Figura 1**: Equipamento a ser utilizado para o tratamento das amotras.

Fonte: Autoria própria (2019).

As amostras tratadas, bem como as utilizadas como controle foram estocadas a 5 °C em sacos plásticos estéreis para a realização das análises microbiológicas e em béqueres de vidro devidamente cobertos para as realizações das análises físico-químicas nos tempos de 0, 3 e 7 dias de armazenamento.

### 2.3 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas seguiram a metodologia descrita por Silva *et al*. (2017) para contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. Cerca de 10 g da amostra foram submetidos aos tratamentos com LED e solução sanitizante. Após o tratamento, as amostras tratadas e controle foram homogeneizadas com 90 mL de água

peptona a 0,1% dando origem à primeira diluição seriada ($10^{-1}$). Partindo-se da diluição $10^{-1}$, foram preparados tubos até a diluição $10^{-4}$. O método *Pour plate* foi utilizado para o plaqueamento com meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA). Para a contagem de aeróbios mesófilos, as placas foram incubadas por 48 horas em estufa a 35 ºC, enquanto a incubação das placas para contagem de aeróbios psicrotróficos foi realizada por 7 dias em geladeira a 5 ºC. Após o período de incubação, foram feitas as contagens dos microrganismos nas placas, optando-se, sempre, pelas diluições que tiverem número de microrganismos entre 20 e 200. O procedimento foi realizado em duplicata.

## 2.4 Análise de clorofilas

A determinação de clorofila nas amostras foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Dere, Gunes e Sivaci (1998), com adaptações. Para a extração da clorofila, foram pesados 2 g de amostra (tratadas e controle), que receberam 100 mL de acetona a 100%. O conteúdo foi homogeneizado em agitador mecânico a 1000 rpm por 1 minuto, antes de ser filtrado com o auxílio de filtro de papel. O filtrado foi centrifugado utilizando centrífuga refrigerada Nova Técnica NT825 a 2500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi separado e as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (ThermoScientific™ GENESYS™ 30 Visible Spectrophotometer) nos comprimentos de onda de 662 nm e 645 nm. O cálculo das concentrações de clorofila a e b foi realizado de acordo com as Equações (1) e (2):

$$Ca: 11,75A_{662} - 2,350A_{645} \qquad (1)$$

$$Cb: 18,61A_{645} - 3,960A_{662} \qquad (2)$$

## 2.5 Análise de fenólicos totais

A conteúdo de fenólicos totais foi avaliado de acordo com a metodologia descrita por Rigueira *et al*. (2016). O procedimento consistiu em triturar a amostra com o auxílio de almofariz de porcelana e adicionar 20 mL de solução metanol/água a 60% v/v a 2 g de amostra triturada, antes de agitar o conteúdo por 1h com o auxílio de agitador magnético e realizar a filtração com filtro de papel. Após a etapa de filtração, adicionou-se 0,5 mL de carbonato de sódio ($Na_2CO_3$) a 7,5% e 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteau a 20%. Em seguida, os tubos passaram por agitação em vórtex por 1 min antes de permanecerem em repouso por 30 min em local escuro. A absorbância em 765 nm foi tomada para a utilização da equação de calibração, de forma a expressar os resultados em mg de fenólicos totais de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de amostra.

A curva de calibração (Figura 2) foi construída a partir das soluções padrões de concentração conhecidas: 50, 100, 150, 200, 300 e 400 µg/mL. A curva apresenta bom ajuste $R^2$ (0,9472) e tem como equação de calibração Abs = 0,0062*C + 0,7676, em que Abs = absorbância e C = concentração (µg/mL).

## 2.6 Análise estatística

Com o auxílio dos softwares Microsoft Excel e PAST, os resultados obtidos no experimento foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas através do Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O processo de análise estatística foi baseado em duas repetições de resultados em laboratório (dados analisados em duplicata).

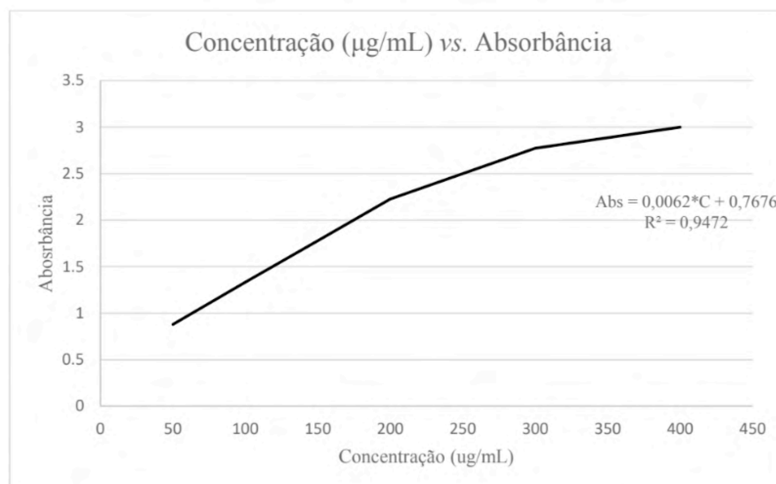



**Figura 2**: Curva de calibração para a concentração de compostos fenólicos.

Fonte: Autoria própria (2019).

# 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Análises microbiológicas

As contagens logarítmicas de microrganismos mesófilos e psicrotróficos aeróbios (log UFC/g) para os diferentes tratamentos e dias são apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Observando a Tabela 1, percebe-se que todos os tratamentos foram capazes de promover redução da carga microbiana de microrganismos mesófilos em todos os dias de armazenamento, em especial a sanitização com hipoclorito de sódio. Entretanto, o tratamento com luz ultravioleta (UV) também se apresentou efetivo, mas não diferiu significativamente nos dias 3 e 7 do tratamento de sanitização com hipoclorito, cujas contagens foram as menores durante todos os dias de armazenamento.

| Estudo de armazenamento | | | |
|---|---|---|---|
| **Tratamentos** | Dia 0 | Dia 3 | Dia 7 |
| Controle | 6,19+- 0,01[Ba] | 5,92+- 0,06[Bb] | 6,43 +- 0,01[Bc] |
| LED UV | 5,35+- 0,03[Aa] | 4,76+- 0,08 [Ab] | 6,00+- 0,01[Ac] |
| Sanitização | 5,02+- 0,05 [Ca] | 4,67+- 0,11[Ab] | 5,89 +- 0,01[Ac] |

**Tabela 1:**Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios para os diferentes tratamentos nos diferentes dias de armazenamento (log UFC/g)

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula (comparação entre dias) na mesma linha não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$).

Para melhor efeito de comparação, o gráfico presente na Figura 3 apresenta as reduções microbianas logarítmicas em função dos dias para os microrganismos mesófilos. Destaca-se, avaliando a imagem, o comportamento similar da amostra tratada com luz ultravioleta em relação à amostra submetida ao tratamento convencional, em que ambas apresentaram reduções logarítmicas semelhantes, em especial nos dias 3 e 7, de forma com que as contagens para as duas amostras tratadas nos dias 3 e 7 não apresentaram diferenças significativas entre si, corroborando a semelhança entre elas no gráfico e o que pode ser observado na Tabela 1.

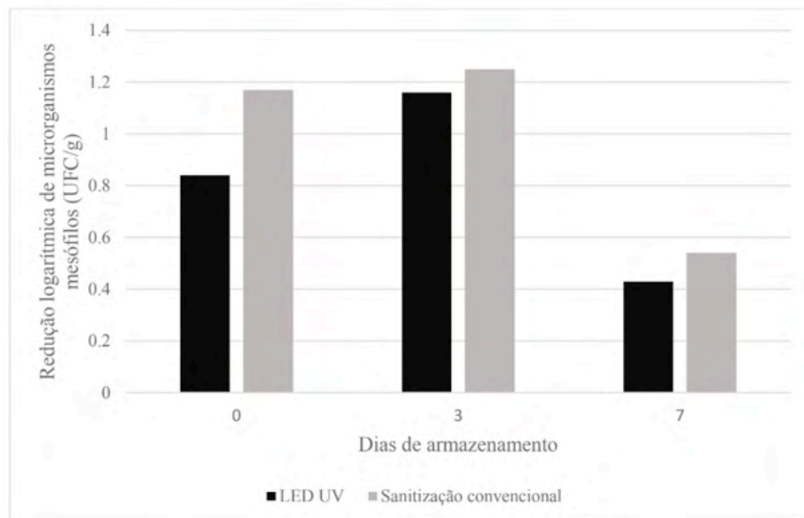



**Figura 3**: Redução logarítmica de microrganismos mesófilos aeróbios (log UFC/g) em função dos dias de armazenamento.

Fonte: Autoria própria.

De maneira similar à contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, a contagem de psicrotróficos (Tabela 2) indica efetividade de ambos os tratamentos aplicados. Neste

caso, a partir do terceiro dia de estocagem, o tratamento LED UV apresentou menores contagens, com destaque para o terceiro e sétimo dia de armazenamento, em que houve diferença significativa entre a menor contagem (tratamento UV) e as demais. A evolução do crescimento microbiano foi menor na amostra tratada com LED UV em comparação às outras amostras, tendo ocorrido uma leve alteração entre os dias 0 e 7 (de 4,18 log UFC/g no dia 0 para 4,88 log UFC/g no dia 7).

| | **Estudo de armazenamento** | | |
|---|---|---|---|
| **Tratamentos** | Dia 0 | Dia 3 | Dia 7 |
| Controle | 4,93+- 0,12$^{Ba}$ | 5,35 +- 0,07$^{Bb}$ | 5,70 +- 0,01 $^{Bc}$ |
| LED UV | 4,18+- 0,2$^{Aa}$ | 4,43 +- 0,02 $^{Aab}$ | 4,88 +- 0,05$^{Ab}$ |
| Sanitização | 3,59+- 0,02 $^{Ca}$ | 4,88 +- 0,01$^{Cb}$ | 4,98 +- 0,02 $^{Ac}$ |

**Tabela 2:** Contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios (log UFC/g) para os diferentes tratamentos nos diferentes dias de armazenamento.

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre dias) não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$).

Analisando o gráfico da Figura 4, percebe-se mais uma vez o comportamento semelhante das amostras tratadas em relação à não tratada, assim como foi observado para os microrganismos mesófilos aeróbios. Neste caso, a redução logarítmica no último dia de armazenamento apresentou números similares para os dois tratamentos, porém nota-se que para este tipo de microrganismo, o tratamento LED se mostrou mais efetivo ao longo dos dias de armazenamento, de forma a ter resultado em maior redução logarítmica nos dias 3 e 7, com destaque para a redução de 0,92 log UFC/g alcançado pelo tratamento LED UV no terceiro dia de tratamento, contra 0,47 log UFC/g do tratamento de sanitização convencional. Este resultado é interessante, pois o tipo de alimento estudado é, normalmente, armazenado em baixas temperaturas nos pontos de comercialização.

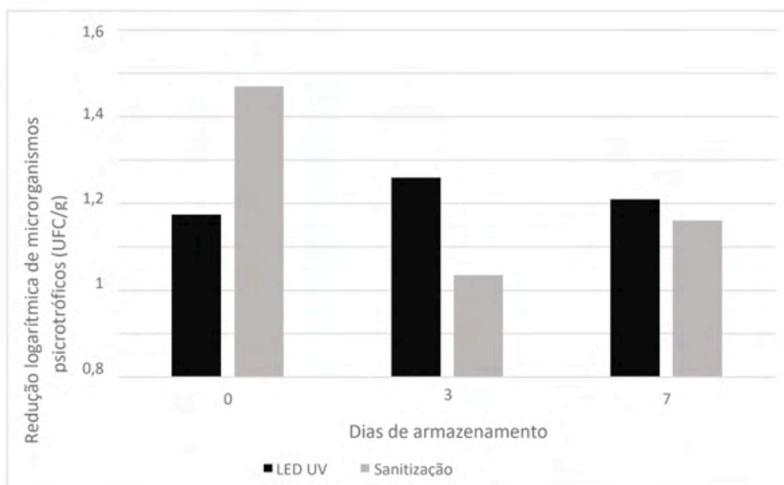



**Figura 4**: Redução logarítmica de microrganismos psicrotróficos aeróbios (log UFC/g) em função dos dias de armazenamento.

Fonte: Autoria própria.

A utilização de tecnologias alternativas em folhas de couve foi estudada por Machado (2017), com a aplicação de ultrassom em combinação com soluções sanitizantes e avaliação do conteúdo de microrganismos mesófilos em função de dias de armazenamento. De maneira similar ao presente estudo, a autora verificou a diminuição de pelo menos 1,0 log UFC/g nas amostras submetidas a tratamentos para o tipo de microrganismo em questão. Kim *et al*. (2013) alcançou a redução de 1,45 log UFC/g para *E. coli*, 1,35 log UFC/g para *S. Typhimurium* e 2,12 UFC/g para *L. monocytogenes* (microrganismo psicrotrófico patógeno) com a aplicação de luz ultravioleta em amostras de alface. Gogo *et al*. (2017) também obtiveram reduções de aproximadamente 1,0 log UFC/g de microrganismos mesófilos aeróbios ao avaliar o efeito da aplicação de luz ultravioleta em vegetais folhosos africanos. Ao quantificar bactérias psicrotróficas aeróbias em couve minimamente processada, Barbosa *et al*. (2017) observou contagens superiores a 6,8 log UFC/g para microrganismos mesófilos e superiores a 6,2 log UFC/g para microrganismos psicrotróficos, percebendo entre estes a presença de bactérias potencialmente patogênicas como *L. monocytogenes*, *Salmonella enteriditis* e *E. coli* O157:H7. A tecnologia LED UV-C foi utilizada por Kim *et al*. (2017) para inativar bactérias *Gram* positivas e *Gram* negativas, atingindo altos valores de redução microbiana (5 log para *E. coli* e 3 log para *Salmonella spp.*). Os autores atingiram reduções inferiores a 1,0 log para *L. monocytogenes* e superiores a 2,0 log para *S. aureus*. Utilizando a mesma tecnologia, Akgun e Unluturk (2017) alcançaram reduções de até 4 log UFC/mL de *E. coli* K12 em amostras de suco de maçã.

A legislação vigente, RDC 12 de 2001 (BRASIL, 2001), não limita os valores de contagens de mesófilos e psicrotróficos aeróbios em frutas e hortaliças, porém diferentes

recomendações sugerem que contagens superiores a 6,0 log UFC/g destes grupos microbianos representam altos riscos à saúde do consumidor, além de possivelmente causar alterações organolépticas indesejáveis nos alimentos (MACHADO, 2017; BARBOSA *et al*, 2017). Considerando estas recomendações, os resultados obtidos no presente trabalho podem ser considerados adequados.

### 3.2 Análise de clorofilas

As concentrações de clorofilas a e b (µg de clorofila/g de couve) são apresentadas na Tabela 6. Para estes compostos, destaca-se a diminuição de suas concentrações nas amostras submetidas aos tratamentos, de forma com que a amostra submetida ao LED UV apresentou maior conteúdo de clorofila a e b em relação à tratada com hipoclorito de sódio durante todo o armazenamento, com exceção da concentração de clorofila b ao final do armazenamento (Dia 7). A amostra controle manteve as maiores médias para as concentrações de clorofilas, indicando que os tratamentos são potencialmente responsáveis por degradar tais pigmentos.

| | **Estudo de armazenamento** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Dia 0 | | Dia 7 | |
| **Tratamento** | Clorofila A | Clorofila B | Clorofila A | Clorofila B |
| Controle | 488,9 +- 21,6$^{Aa}$ | 117,2 +- 2,17$^{Aa}$ | 231,5 +- 37,6$^{Ab}$ | 66,3 +- 20,1 $^{Ab}$ |
| LED UV | 338,2 +- 19,7$^{Ba}$ | 90,0 +- 17,3 $^{Ba}$ | 148,9 +- 2,3 $^{Bb}$ | 3,7 +- 2,7 $^{Bb}$ |
| Sanitização | 260,4 +- 3,5$^{Ca}$ | 56,1 +- 7,0 $^{Ca}$ | 113,3 +- 0,8 $^{Cb}$ | 20,6 +- 6,0 $^{Cb}$ |

**Tabela 3:** Concentração de clorofila a e b para os diferentes tratamentos durante os dias de armazenamento (ug clorofila/g de couve)

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$).

O conteúdo de clorofila a e b foi avaliado por Gogo *et al*. (2017) em função da dose aplicada e tempo de armazenamento de vegetais folhosos. Os autores observaram a degradação de clorofilas a e b ao longo da estocagem para amostras não tratadas, enquanto o conteúdo destes pigmentos nas amostras submetidas a luz UV foram variados, apresentando aumento em até 10 dias de armazenamento e decréscimo após este período, o que indica o efeito positivo da radiação UV-C sobre vegetais folhosos. Entretanto, Streit *et al*. (2015) indicam que as clorofilas são foto-oxidadas, ou seja, sensíveis à presença de luz, sendo a concentração de clorofilas um indicativo da sensibilidade do tecido vegetal a fortes irradiações.

A degradação de clorofila em plantas submetidas a irradiação de luz ultravioleta fluorescentes foi observada por Salama *et al.* (2011). Os autores relacionaram este

resultado à desnaturação de compostos fotossintéticos sensíveis à radiação UV. Boeger *et al.* (2006) também verificaram a degradação de clorofila em ervas tratadas com luz UV, e associaram este resultado à ruptura de tilacoides (membranas localizadas no interior dos cloroplastos). O decréscimo de clorofila b em algas foi estudado por Nassour *et al.* (2017), Os autores relacionaram a degradação deste componente com o tempo de exposição das algas à luz UV-C, observando uma relação diretamente proporcional entre o tempo de irradiação e a degradação de clorofila.

### 3.3 Análise de fenólicos totais

As concentrações de fenólicos totais (mg EAG/100g de couve) para os tratamentos durante o decorrer do período de estocagem são mostradas na Tabela 4. Nota-se que nenhuma das três amostras diferiram-se significativamente entre si ao longo dos três dias de estocagem, embora a amostra controle tenha registrado maior média no dia 0, seguida da amostra submetida à sanitização convencional e da tratada por LED UV. Entretanto, este panorama variou durante o tempo de armazenamento para cada tratamento, sendo que a amostra LED UV registrou médias maiores do que a tratada convencionalmente no dia 3, e ambas amostras tratadas registraram médias maiores do que a amostra controle ao fim do período de armazenamento (dia 7). Para as amostras que receberam aplicação de tratamento nota-se, também, que suas médias não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) ao longo dos dias de estocagem, sendo apenas as médias da amostra controle durante os dias significativamente diferentes ($p < 0,05$).

| | **Estudo de Armazenamento** | | |
|---|---|---|---|
| **Tratamentos** | Dia 0 | Dia 3 | Dia 7 |
| Controle | 286,6 +- 5,8$^{Aa}$ | 352,7 +- 10,6$^{Ab}$ | 191,3 +- 19,0$^{Ac}$ |
| LED UV | 226,1 +- 100,0$^{Aa}$ | 341,5 +- 13,2$^{Aa}$ | 209,5 +- 23,8$^{Aa}$ |
| Sanitização | 236,2 +- 24,6$^{Aa}$ | 312,2 +- 7,3$^{Aa}$ | 257,2 +- 25,7$^{Aa}$ |

**Tabela 4:** Concentração de compostos fenólicos (mg EAG/100g de couve) para os diferentes tratamentos nos diferentes dias de armazenamento.

Médias com a mesma letra maiúscula em uma mesma coluna (comparação entre tratamentos) ou com a mesma letra minúscula na mesma linha (comparação entre linhas) não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$).

Maghoumi *et al*. (2013) quantificaram o conteúdo de compostos fenólicos em romã, e os autores puderam verificar a manutenção destes componentes ao longo do armazenamento em amostras tratadas com luz ultravioleta. Khandpur e Gogate (2015) avaliaram a quantidade de compostos fenólicos em diversos sucos, com destaque ao suco de espinafre (pela proximidade com a matriz aqui estudada), onde a amostra controle apresentou grande degradação ao longo do tempo, enquanto as amostras submetidas aos

tratamentos mantiveram a concentração de fenólicos até o fim do armazenamento.

O conteúdo de fenólicos totais em plantas submetidas a irradiação luz ultravioleta foi avaliado por Bo *et al* (2019), onde o conteúdo de fenólicos para amostras tratadas se manteve superior àquela que não recebeu tratamento. A aplicação de luz ultravioleta em suco de melancia resultou na manutenção do conteúdo de fenólicos em longos períodos de armazenamento (37 dias), havendo aumento no terceiro dia de estocagem, com destaque para as amostras que receberam maior intensidade de irradiação que resultaram em maiores médias em relação à controle.

O aumento da concentração de fenólicos em função do tempo de estocagem em amostras irradiadas foi observado por Guam, Fan e Yan (2013), que notaram o aumento de cerca de 30% no conteúdo de fenólicos em cogumelos armazenados a baixas temperaturas. No presente estudo, este efeito foi observado apenas no último dia de armazenamento (dia 7), em que a amostra submetida ao LED UV apresentou média superior à controle ao mesmo tempo de armazenamento, corroborando o efeito a longo prazo da aplicação de luz ultravioleta no que diz respeito à concentração destes componentes. O efeito da luz ultravioleta no conteúdo de compostos fenólicos de vegetais não é totalmente conhecido, mas diversos estudos apontam para, ao menos, a manutenção deste conteúdo. Em base aos resultados desta pesquisa, a aplicação da tecnologia UV LED não prejudica o conteúdo destes importantes componentes do vegetal.

## 4 | CONCLUSÃO

Os resultados alcançados neste trabalho, bem como aqueles apresentados nos estudos utilizados como referência, indicam certa viabilidade no uso da tecnologia, com destaque para o seu efeito sobre a carga microbiológica da matriz estudada, obtendo níveis de sanitização similares aos do método convencionalmente aplicado. Entretanto, mais testes precisam ser realizados para garantir a potencialização da inativação microbiana, analisando separadamente microrganismos patogênicos e verificando a viabilidade da utilização desta tecnologia com a finalidade de garantir segurança alimentar para os consumidores.

Ademais, as análises de parâmetros físico-químicos se mostraram promissoras, promovendo, ao menos, efeitos similares aos do tratamento convencional ou da amostra controle. Diversas outras análises físico-químicas devem ser realizadas no processo de viabilização do uso da tecnologia, avaliando o efeito da aplicação sobre grande parte dos constituintes da matriz alimentar.

Os resultados obtidos são condizentes com estudos de novas tecnologias para o processamento de alimentos, pois se apresentam como alternativa às tecnologias convencionais com a vantagem de eliminar o uso de produtos químicos e não gerar resíduo tóxicos, o que a torna ambientalmente correta. Diante disto, o presente estudo serve como

base para uma exploração muito maior do uso da tecnologia UV, inclusive abrangendo diversas outras matrizes alimentares, como pôde ser observado durante a discussão dos resultados aqui apresentados.

## REFERÊNCIAS


BARBOSA, T. A.; SOUZA, Y. J. B.; SILVA, I. C. R.; ORSI, D. C.; FREIRE, D. O. Avaliação microbiológica de couve minimamente processada comercializada em supermercados de Brasília, DF. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 272/272, p. 97-101. 2017.

BEGUM, M.; HOCKING, A. D.; MISKELLY, D. Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 129, n. 1, p. 74-77, 2009.

BO, W.; CHENG, Z.; HU, Y.; BOON-EK, Y.; WONGS-AREE, C.; SUPAPANICH, S. Ultraviolet-C treatment maintains physicochemical quality of water bamboo (Zizania latifolia) shoots during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 152, p. 65-72, 2019.

BOEGER, M. R. T.; POULSON, M.; Efeitos da radiação ultravioleta-B sobre a morfologia foliar de Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. (Brassicaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 329-338, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, DF, 2001.

DERE, S.; GUNES, T.; SIVACI, R.; Spectrophotometric Determination of Chlorophyll – A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. **Turkish Journal of Botany**, v. 22, p. 13-17, 1998.

GOGO, E. O.; OPIYO, A. M.; HASSENBERG, K.; ULRICHS, C.; HUYSKENS-KEIL, S. Postharvest UV-C treatment for extending shelf life and improving nutritional quality of African indigenous leafy vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 129, n. 2, p. 107-117, 2017.

GUAM, W.; FAN, X.; YAN, R. Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of Escherichia coli O157:H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms. **Food Control**, v, 34 p. 554-559, 2013.

KHANDPUR, P.; GOGATE, P. R. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 125-136, 2015.

KIM, D-K.; KIM, S-J.; KANG, D-H. Bactericidal effect of 266 to 279 nm wavelength UVCLEDs for inactivation of Gram positive and Gram negative foodborne pathogenic bacteria and yeasts. **Food Research International**, v. 97, p. 280-287, 2017.

KIM, Y-H.; JEONG S-G.; BACK, K-H.; PARK, K-H.; CHUNG, M-S.; KANG, D-H. Effect of various conditions on inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, and Listeria monocytogenes in fresh-cut lettuce using ultraviolet radiation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, n. 3, p. 349-355, 2013.

MACHADO, M. C. M. M. **Aplicação do ultrassom e compostos químicos na sanitização de couve (Brassica oleracea L. var. acephala)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, 2017.

MAGHOUMI, M.; GOMEZ, P. A.; MOSTOFI, Y.; ZAMANI, Z.; ARTES-HERNÁNDEZ, F.; ARTES, F. Combined effect of heat treatment, UV-C and super atmospheric oxygen packing on phenolics and browning related enzymes of fresh-cut pomegranate arils. **Food Science and Technology**. v. 54, p. 389-396, 2013.

NASSOUR, R.; AYASH, A.; MOHAMAD, I. The effect of ultraviolet radiation on chlorophyll in Chlamydomonas Reinhardtii. **International Journal of Agriculture & Enviromental Science**, v. 4, n. 6, p. 22-26, 2017.

PARK, S-H.; KANG, J-W.; KANG, D-H. Inactivation of foodborne pathogens on fresh produce by combined treatment with UV-C radiation and chlorine dioxide gas, and mechanisms of synergistic inactivation. **Food Control**, v. 92, p 331-340, 2018.

RIGUEIRA, G. D. J. R.; BANDEIRA, A. V. M.; CHAGAS, C. G. O.; MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (Brassica oleracea L. var. acephala) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 37, n. 2, p 3-12, 2016.

ROCHA, G. G.; MIYAGI, A. M. C; GUIMARÃES, L. I.; CARDOSO, V. L.; MATIAS, A. C. G.; ABREU, E. S. Qualidade microbiológica de couve manteiga (Brassica oleracea) minimamente processada comercializada em São Paulo, Brasil. **Revista Univap**, v. 20, n. 36, 2014.

SALAMA, H. M. H.; WATBAN, A. A.; AL-FUGHOM, A. T. Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 1, p. 79-86, 2011.

SANTOS, K. R. S. B., TEIXEIRA, C. N. S., JÚNIOR, N. M. V., SANTANA, R. F., MIRANDA, A. S., COUTINHO, R. G. Estudo comparativo da couve minimamente processada e in natura, segundo aspectos de qualidade microbiológica. **Demetra: Alimentação, Nutrição e Saúde**. v. 10, n. 2, p. 279-287, 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 5. ed. **São Paulo: Editora Blucher**, 2017.

SILVA, W. L.; MEDEIROS, R. A. B.; PIRES, E. F. Eficiência do cloro para sanitização de hortaliças. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 256, p. 132-136. 2015 .

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755. 2005.

TRANI,P. E., Tivelli, S. W., Blat, S. F., Prela-Pantano, A., Teixeira, E. P., Araújo, H. S., ... & Novo, M. C. S. S. Couve de folha: do plantio à pós-colheita. Campinas: Instituto Agronômico, **Boletim Técnico IAC**, v. 214, p. 36, 2015.

# CAPÍTULO 3

## PRÁTICAS DE PROCESSO FERMENTATIVO EM AMBIENTE DOMÉSTICO PARA O ENSINO REMOTO EMERGENCIAL

*Data de aceite: 01/08/2021*

*Data de submissão: 19/05/2021*

**Rosangela Maria Oliveira Marinho**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Mestranda em Tecnologia de Alimentos.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/2358780482877038

**Rute Chayenne Teixeira de Azevedo**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Mestranda em Tecnologia de Alimentos.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/3955590692267727

**Glinailzia Dodó da Silva**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Mestranda em Tecnologia de Alimentos.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/3865390416117912

**Daiane de Moura Araújo**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Mestranda em Tecnologia de Alimentos.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/8075983130700579

**Felipe Sousa da Silva**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Mestrando em Tecnologia de Alimentos.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/207997790829901

**Sheyla Maria Barreto Amaral**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Mestranda em Tecnologia de Alimentos.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/9412127123391229

**Mayara Salgado Silva**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Limoeiro do Norte, Docente Permanente.
Limoeiro do Norte – Ceará
http://lattes.cnpq.br/3999448474509937

**RESUMO:** Os processos fermentativos podem ser verificados através de parâmetros como alteração de sabor, cor, odor, textura e peso. O ensino remoto emergencial tem ganhado maiores proporções na educação de cursos superiores, sendo o acompanhamento fermentativo em meio doméstico uma opção de atividade prática aplicada nessa condição. Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade do acompanhamento de três tipos de fermentação em meio doméstico: Fermentação lática em leite; Fermentação lática em carne moída e Fermentação alcoólica em mosto de mel. Os parâmetros de acompanhamento foram odor, sabor, volume de água perdido, produção de gás e formação de bolhas. Nas amostras de carne a fermentação durou 10h, já para o mosto de mel esse tempo foi de 48h e para o leite o tempo foi de 8h. Ao final, pode-se constatar que os parâmetros observados foram suficientes para garantir um acompanhamento didático, e por isso essas atividades podem ser aplicadas para

observação durante o Ensino Remoto Emergencial.

**PALAVRAS - CHAVE**: Ensino Remoto Emergencial, Fermentação, Sensorial.

## PRACTICAL CLASSES OF FERMENTATIVE PROCESS IN HOME FOR EMERGENCY REMOTE EDUCATION

**ABSTRACT:** Fermentation processes can be verified through parameters such as changes in flavor, color, odor, texture and weight. Emergency remote education has gained greater proportions in the graduation courses, with fermentative monitoring in home being an option of practical activity applied in this condition. Thus, the objective of the present work was to evaluate the feasibility of monitoring three types of fermentation in home: Lactic fermentation in milk; Lactic fermentation in meat and Alcoholic fermentation in honey must. The monitoring parameters were odor, taste, volume of water lost, gas production and bubble formation. In the meat samples, the fermentation lasted 10 h, for the honey must this time was 48 h and for the milk the time was 8 h. In the end, it can be seen that the observed parameters were sufficient to guarantee a didactic follow-up, and for that reason these activities can be applied for observation during Emergency Remote Teaching.

**KEYWORDS:** Emergency Remote Teaching, Fermentation, Sensory.

## 1 I INTRODUÇÃO

O monitoramento do processo fermentativo é bastante importante, pois permite determinar o tempo de fermentação necessário à elaboração de um dado produto, fato este relevante, principalmente a nível industrial, tendo em vista que se pode diminuir o tempo de processamento, reduzindo despesas e consequentemente o custo (SANTOS *et al.,* 2020).

Desde a antiguidade, a fermentação é considerada como uma técnica de conservação capaz de preservar e manter as características dos produtos por mais tempo. As bactérias do ácido lático (BAL), são relatadas como um dos principais grupos microbianos envolvidos neste processo. Tratam-se de bactérias Gram+, não patogênicas que possuem metabolismo anaeróbio ou anaeróbio facultativo. Requerem um ambiente nutricional específico e tem como produto final de seu metabolismo, o ácido lático (KASZAB *et al.,* 2020).

Os produtos lácteos fermentados são largamente consumidos em todo o mundo e as tendências de mercado sugerem que o consumo dos mesmos aumentará nos próximos anos. Esse fato se deve a constante busca dos consumidores por produtos que possam trazer benefícios à saúde e as evidências científicas que revelam efeitos benéficos destes alimentos sobre a microbiota intestinal, o que está relacionado a contribuições para uma vida mais saudável (GARCÍA-BURGOS *et al.,* 2020).

As BAL's, possuem a capacidade de iniciar a acidificação rápida de produtos lácteos, produzindo ácido lático no meio, bem como outras moléculas tais como ácido acético, etanol, compostos de aroma, bacteriocinas, exopolissacarídeos e enzimas (PENG *et al.,* 2020). Apesar de estas bactérias estarem mais associadas às fermentações em produtos

lácteos, elas também são importantes agentes de transformação em derivados cárneos.

A carne possui um alto valor nutricional, o que a torna extremamente suscetível a proliferação microbiana e consequentemente, à deterioração. Devido ao pH oportuno e ao alto teor de água livre, há uma grande chance de desenvolvimento de microrganismos que não são desejáveis em alimentos. Por isso os métodos de preservação são tão importantes. Dentre os procedimentos utilizados na carne para a sua proteção e conservação, os principais e mais conhecidos são a secagem, fermentação e salga. Antigamente, quando não existiam métodos sofisticados de conservação de alimentos, a fermentação era algo que acontecia de forma espontânea, ou seja, a carne era fermentada com microrganismos do ambiente juntamente a sua própria microbiota. Porém, isso pode influenciar de forma negativa nas características da carne, sendo inclusive perigoso para o consumo (VEDOVATTO *et al*., 2019).

A produção das carnes fermentadas baseia-se principalmente nas várias ações do metabolismo das bactérias, especificamente, as bactérias do ácido lático, que podem ser usadas em conjunto com outras bactérias, e assim, gerar características sensoriais típicas desses alimentos (CHARMPI *et al*., 2020).

Além das bactérias láticas, as leveduras são amplamente conhecidas e estudadas pela sua capacidade de produzir etanol principalmente na fermentação para produção de bebidas alcoólicas. A produção dessas bebidas ocorre desde as civilizações antigas sendo que o procedimento aplicado evoluiu paralelo a evolução da sociedade (BRUNELLI, 2015). Dentre estas bebidas está o hidromel que é uma bebida alcoólica fermentada e produzida com mel, água e levedura, onde ocorre a produção de etanol pela ação das leveduras sobre os açúcares disponíveis. Além do etanol são produzidas outras substâncias importantes para a caracterização como os compostos aromáticos, de acordo com a procedência do mel, ou seja, as espécies florais onde as abelhas coletaram o néctar (RIBEIRO JÚNIOR; CANAVER; BASSAN, 2017).

O estudo dessas fermentações apresenta-se como uma prática comum no aprendizado do ensino superior para as áreas de Ciências Biológicas e Produção alimentícia. Entretanto, devido a pandemia da Covid-19 os professores tiveram que se reinventar e desenvolver práticas de acompanhamento em ambientes não controlados, sendo o acompanhamento fermentativo em meio doméstico uma opção de atividade prática aplicada nessa condição. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade do acompanhamento de três tipos de fermentação em meio doméstico: fermentação lática em leite; fermentação lática em carne moída e fermentação alcoólica em mosto de mel.

## 2 I METODOLOGIA

As análises de fermentação lática em leite foram realizadas na cidade de Morada Nova-Ceará, no mês de agosto de 2020. As análises de fermentação lática em carne foram realizadas na cidade de Limoeiro do Norte-Ceará, em agosto de 2020 e as análises de fermentação alcoólica em mosto de mel foram realizadas na cidade de Jardim do Serió-Rio Grande do Norte. Os insumos utilizados na pesquisa foram adquiridos nos comércios locais de cada cidade onde foram realizados os acompanhamentos.

### 2.1 Acompanhamento do processo fermentativo em leite

Inicialmente separou-se uma amostra de 200 mL de leite para servir como controle. Em seguida 900 mL de leite foram fervidos e resfriados a 45 ºC, com auxílio de um termômetro digital (Figura 1A), e então adicionou-se 100 mL de iogurte pronto. Após inoculada, a mistura foi dividida em 5 recipientes plásticos de 200 mL (Figura 1B). Por fim, as amostras foram analisadas quanto aos parâmetros de odor, sabor, viscosidade e volume de soro formado, em 5 Tempos de Fermentação: 0h, 2h, 4h, 6h e 8h. A fermentação ocorreu a temperatura ambiente (30-35 °C).

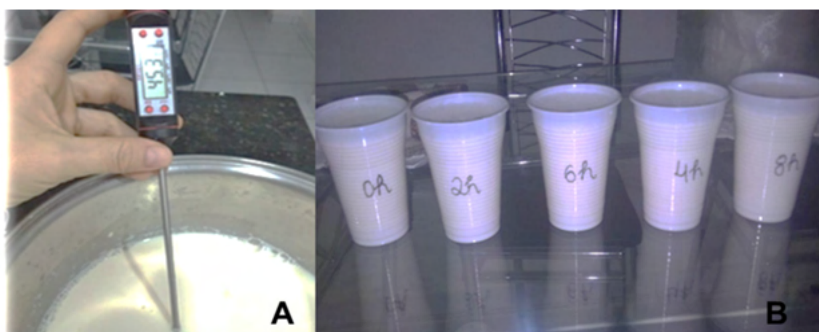



**Figura 1:** Processamento do iogurte, (A) Controle de temperatura e (B) Amostragem para análises.

**Fonte:** Arquivos dos autores.

### 2.2 Acompanhamento do processo fermentativo em carne

Neste acompanhamento foram utilizados 1.640 g de carne bovina moída e 120 g de coalhada pronta. Foram produzidas 2 amostras, uma amostra controle somente com 440 g de carne e nas repetições com 400 g de carne e 40 g de coalhada comercial, essa foi feito em triplicata, as amostras foram acondicionadas em potes plásticos e foram analisados peso, cheiro e cor em 5 Tempos de Fermentação: 0h, 2h, 4h, 6h, 8h e 10h (Figura 2). A fermentação ocorreu a temperatura ambiente (30-35 °C).




**Figura 2:** Amostragem para processo fermentativo após o preparo da amostra (T0).

**Fonte:** Arquivos dos autores.

## 2.3 Acompanhamento do processo fermentativo em mosto de mel

Para este acompanhamento foram utilizados 1 litro de água potável, 250 mL de mel e 10 g de fermento biológico seco, acondicionados em garrafas PET munidas de mangueira para liberação de gases (Figura 3), em triplicata. Para o preparo do mosto, a água foi aquecida até o ponto de ebulição e resfriada até atingir a temperatura ambiente (35 ºC) para receber o mel que foi diluído sobre agitação. Por fim, adicionou-se o fermento biológico para pães e o material foi acondicionado nas garrafas PET. Foram realizadas analises de pesagens em 9 Tempos de Fermentação: 0h, 6h, 12h, 18h, 24h, 30h, 36h, 42h e 48h, correspondendo esta última a fase de fermentação tumultuosa. A fermentação ocorreu a temperatura ambiente (30-35 °C).



**Figura 3:** Biorreator em garrafa PET após 6 h do início da fermentação.

**Fonte:** Arquivos dos autores.

## 3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Acompanhamento do processo fermentativo em leite

No Tempo 0, o leite adicionado do inóculo, apresentou-se com características esperadas e semelhantes à amostra controle. Como previsto, não foram observadas mudanças nos parâmetros viscosidade, odor, sabor e nem na separação do soro, que se forma durante a produção de iogurte, ao realizar a filtragem da amostra (Figura 4A).

No Tempo 1 (2h), foram observados indícios de fermentação, verificando-se leve aumento da viscosidade e certa quantidade de soro (50 mL) formado após a filtragem (Figura 4B). No tempo 2 (4h), já foi possível observar características mais próximas às do iogurte tendo em vista que o produto se apresentou mais viscoso e com aroma e sabor levemente ácidos e semelhante ao produto comercial, bem como uma maior formação de soro após filtragem (105 mL) (Figura 4C).

No Tempo 3 (6h), observou-se uma evolução na viscosidade e consistência ao ser comparado com os tempos de fermentação anteriores, estes parâmetros juntamente com o aroma e sabor já demostram ser característicos de um iogurte comercial. Mas, com elevado volume de soro formado durante o processo, num valor próximo de 112 mL (Figura 4D). No Tempo 4 (8h), observou-se um comportamento muito próximo do tempo anterior, com parâmetros semelhantes até mesmo o volume de soro formado de 100 mL (Figura 4E), remetendo ao final do processo fermentativo e estabilização das características do produto.

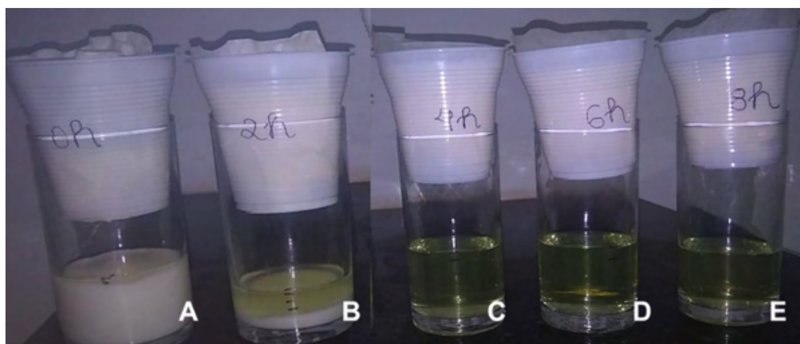



**Figura 4**: Análise de formação de soro durante o processo fermentativo.

**Fonte:** Arquivos dos autores.

O final da fermentação diagnosticado pela estabilização do volume de soro liberado após 4 e 6 h equivale aos dados apresentados para iogurtes produzidos em ambiente controlado para fins comerciais. Santos *et al.* (2020), descrevem que a fase de crescimento exponencial para a cultura lática de iogurte ocorre nas 6 horas iniciais. E, Silva *et al.* (2012), retratam que à medida em que ocorre a fermentação, o pH decresce em função da produção

de ácido lático das culturas inoculadas, provocando a coagulação das proteínas do leite e a formação do coalho, possibilitando a formação de textura e sabor característico do iogurte. Nos testes domésticos, a coagulação foi percebida pela liberação de soro nas amostras no decorrer do tempo, sendo este um parâmetro válido para observações práticas em ambiente doméstico.

## 3.2 Acompanhamento do processo fermentativo em carne

No Tempo Zero (0h), a amostragem possuía o mesmo peso. O cheiro na amostra controle era característico de carne fresca, enquanto na amostra inoculada com coalhada comercial percebia-se o leve aroma típico de ácido lático, quanto a cor era de vermelho vivo para o controle enquanto as triplicatas possuíam uma coloração vermelha mais clara.

No Tempo 1 (2h), visualmente não ocorreram mudanças quanto ao cheiro entre as amostras. Em relação ao peso, na amostra controle observou-se constância (440 g), enquanto nas amostras inoculadas este parâmetro reduziu, com peso médio de 437 g, tendo relação direta com a perda de água observada na carne. Quanto a cor, todos apresentaram diminuição da cor vermelho vivo dando início ao um escurecimento mais opaco. No tempo 2 (4h), todas as amostras tiveram redução de peso e liberação de líquido. O controle apresentou valor de 437 g enquanto as repetições tiveram maior perda de peso apresentando valor de 430 g, também começaram a apresentar aroma mais ácido com intensificação da coloração escura (Figura 5).

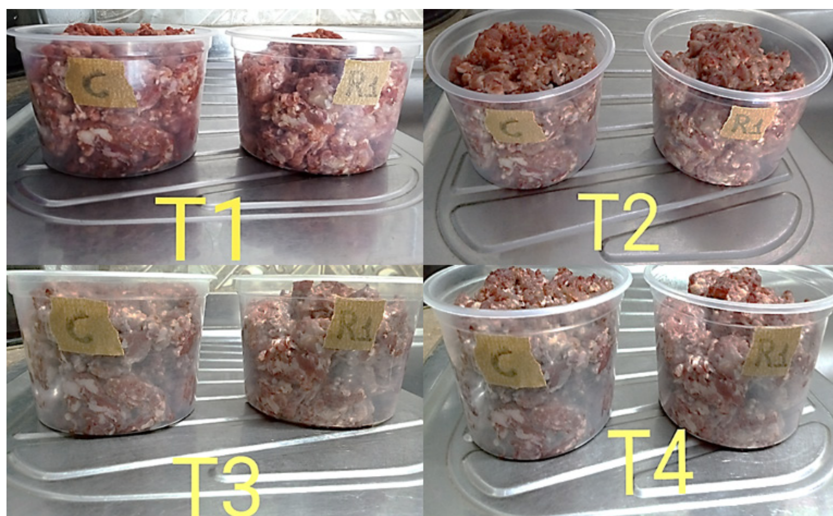



**Figura 5:** Demonstrativo de alterações visuais durante o processo fermentativo, Controle (C) e Repetição 1 (R1).

**Fonte:** Arquivos dos autores.

Nos Tempo 3 e 4 (6h-8h), as amostras apresentaram características semelhantes com aroma ácido mais intenso e coloração mais escura, com total ausência do vermelho vivo e continuidade na perda de peso para todas as amostras (Figura 5).

No último Tempo (10h), o controle liberou mais líquido, mas com aroma não agradável (semelhante a esgoto) e com surgimento de pontos pretos e verdes, nesse caso já apresentava sinal de deterioração ultrapassada, podendo refletir que carne sem uma conservação adequada com apenas 10 horas perde completamente sua viabilidade de consumo. Entre as repetições pela presença da coalhada, o aroma estava menos intenso, porém ainda apresentavam alguns pontos verdes.

Os resultados mostram que a adição da coalhada à carne retardou o processo de deterioração, porém após 10 horas de acompanhamento em temperatura ambiente, a carne apresentava características que a tornavam inviável para consumo.

Além disso, as amostras com coalhada tiveram uma maior redução de peso se comparadas ao controle, essa diminuição do peso também foi observada no estudo de Macedo *et al.* (2008), ao estudar a cinética fermentativa com adição das espécies probióticas de *Lactobacillus* sobre as características físico-químicas de salame, onde foi observada maior redução de peso e diâmetro nas amostras que receberam diferentes tratamentos. Gomes *et al.* (2020), desenvolveram um salame adicionado de microcápsulas probióticas e avaliaram os efeitos sobre a perda de peso no produto elaborado, concluindo que as amostras inoculadas também apresentaram maior perda decorrente do processo fermentativo ao longo do tempo de maturação. Deste modo, pode-se perceber que a fermentação de carne em ambiente doméstico também é possível, no entanto o processo é mais desagradável, levando em conta o forte odor liberado pela carne.

## 3.3 Acompanhamento do Processo Fermentativo do Hidromel

A produção do hidromel foi acompanhada durante 48 horas por meio de pesagens nos intervalos de 6h e também pela análise visual entre as amostras com vista a observação de formação de bolhas e decantação das leveduras. O início da fermentação ocorreu de forma turbulenta e o fermentador acabou transbordando, sendo necessário a realização da limpeza do *air lock,* um novo envase e pesagem para iniciar uma nova fermentação do hidromel. Deste modo, recomenda-se que durante o envase da garrafa seja liberado um espaço mínimo de 25% para expansão do produto.

Durante as pesagens, constatou-se um declínio em relação ao volume de espuma e também de peso, isso indica o consumo de açúcares pelas leveduras e consequente liberação de dióxido de carbono como consequência do metabolismo primário. Na Figura 6, pode-se observar a diminuição da espuma, no final das 48h de fermentação, é possível visualizar a decantação da levedura indicando o final da fermentação tumultuosa.



**Figura 6:** Amostragem do fermentado alcoólico após 48 horas de fermentação.

**Fonte:** Arquivos dos autores.

O produto final resultou em um fermentado de cor clara, sabor seco e acentuado, características típicas de hidroméis produzidos nessas condições, segundo Batista (2017) os açúcares provenientes do mel são consumidos pelas leveduras, e utilizados como substrato na produção de álcool, ocasionando assim uma diminuição gradual no teor de sólidos solúveis, proporcionando sabor mais acentuado e seco no hidromel produzido. Deste modo, foi possível constatar que a prática de acompanhamento fermentativo do mosto de mel é viável e aplicável em ambiente doméstico.

## 4 I CONCLUSÃO

Durante o acompanhamento da fermentação lática em leite, o parâmetro ideal a ser observado é a perda de água pelo volume de soro liberado no decorrer da coagulação da proteína. A perda de peso também foi ideal para acompanhamento do processo de fermentação lática em carnes, no entanto esta prática torna-se desagradável pelo aroma liberado durante as observações, podendo atrair insetos. Recomenda-se que o mesmo seja realizado em local refrigerado para diminuir o desconforto. Apesar da perda de peso ser aplicável também na fermentação de mosto de mel, observou-se que a decantação de leveduras e produção de dióxido de carbono são parâmetros mais simples para acompanhamento, tendo em vista que a perda de peso é muito baixa e a eficiência irá depender do tipo de balança disponível em ambiente doméstico. Por fim, as práticas fermentativas são viáveis e recomendadas para observações e estudos em ambiente doméstico durante o Ensino Remoto Emergencial.

## REFERÊNCIAS

BATISTA, A. C. **Avaliação das características tecnológicas de hidromel tipo melomel produzido com diferentes cepas de saccharomyces cerevisae**. 2017. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/16637/2/PG_COALM_2017_2_08.pdf.

BRUNELLI, L. T. **Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel**. 2015. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2015. Disponível em: http://www.pg.fca.unesp.br/Teses/PDFs/Arq1432.pdf

CHARMPI, C.; VAN der VEKEN, D.; VAN RECKEM, E.; DE VUYST, L.; LEROY, F. Raw meat quality and salt levels affect the bacterial species diversity and community dynamics during the fermentation of pork mince. **Food Microbiology**, v. 89, p. 103434, 2020. https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103434

GARCÍA-BURGOS, M.; MORENO-FERNÁNDEZ, J.; ALFÉREZ, M. J. M.; DÍAZ-CASTRO, J.; LÓPEZ-ALIAGA, I. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. **Journal of Functional Foods**, v. 72, p. 1040-1059, 2020. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104059

GOMES, B. O.; OLIVEIRA, C. M.; MARINS, A. R.; COUTINHO, F. H.; GOMES, R. G.; FEIHRMANN, A. C. Aplicação do probiótico bifidobacterium animalis ssp. Lactis-bb12 em embutido cárneo fermentado tipo salame. In: **Simpósio de Segurança Alimentar**, 7, 27 a 29 de outubro de 2020, on-line. Disponível em: http://schenautomacao.com.br/ssa7/envio/files/trabalho3_315.pdf

KASZAB, T.; BODOR, Z.; MOHÁSCI-FARKAS, C.; SLAVCHEV, A.; KÓVACS, Z. Monitoring of different probiotic activity lactobacillus strains' growth by different physico-chemical parameters. **Hungarian Agricultural Engineering**, n. 37, p. 97-102, 2020. http://doi.org/10.17676/HAE.2020.37.97

MACEDO, R. E. F.; PFLANZER JUNIOR, S. B.; TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S. Desenvolvimento de embutido fermentado por Lactobacillus probióticos: características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, n. 28, p. 509-519, 2008. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000300002

PENG, K.; KOUBAA, M.; BALS, O.; VOROBIEV, E. Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: a review. **Food Research International**, v. 137, p. 1044-1095, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109544

RIBEIRO JÚNIOR, M. R.; CANAVER, A. B.; BASSAN, C. F. D. Produção de hidromel: análise físico-química e sensorial. **Revista Unimar Ciências**, v. 24, n. 1-2, 2017.

SANTOS, J. V. R.; MIRANDA, E. S. M.; OLIVEIRA, A. T. C. de; DAMACENO, M. N.; SILVA, M. S.; CAVALCANTE, A. B. D. Cinética da fermentação de leite adicionado de Farinha de Banana Verde na produção de iogurte. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e295985316, 2020. https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5316

SILVA, A. R.; MORO, L. M.; PINTO, E. G.; SOUZA, A. F.; FRANCO, B. Estudo do comportamento cinético e reológico da Fermentação lática na produção do iogurte natural. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 1907-1913, 2012.

VEDOVATTO, E.; STEFFENS, C.; CANSIAN, R. L.; BACKES, G. T.; VERLINDO, R. Avaliação de diferentes culturas starters na elaboração de salame tipo italiano. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 1-24, 2019. http://dx.doi.org/10.1590/1809-6891v20e-47777

# CAPÍTULO 4

# VALIDATION OF IC-ELISA: LOW-COST IMMUNOASSAY DEVELOPED FOR AFLATOXIN ANALYSIS IN EGG

*Data de aceite: 01/08/2021*

*Data de submissão: 06/05/2021*

**Lívia Montanheiro Médici Zanin**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 6295492943449035

**Thaís Marques Amorim**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 5825065399245544

**Fernando de Godoi Silva**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 4013372901815345

**Fabiana Akemi Hirata Bae**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 1585013910309012

**Giovana dos Santos Marcolino**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 8261021118222059

**André Ribeiro da Silva**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 3084223230359837

**Mariana Ribeiro Benfatti**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 6088928364865717

**Angélica Tieme Ishikawa**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 7792634769385318

**Cássia Reika Takabayashi Yamashita**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
D Lattes: 2697502551053565

**Daiane Dias Lopes**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 8800633109553726

**Elisabete Yurie Sataque Ono**
Department of Biochemistry and Biotechnology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 9080149399359784

**Eiko Nakagawa Itano**
Department of Biology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 0678087604864219

**Osamu Kawamura**
Department of Applied Biological Science, Faculty of Agriculture, Kagawa University, Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa, Japan

**Elisa Yoko Hirooka**
Department of Food Science and Technology, State University of Londrina
Londrina, Paraná, Brasil
ID Lattes: 8703225783188622

**ABSTRACT:** Aflatoxin is a hazardous toxic contaminant in food and feed, with frequent losses in animal production. A low cost indirect competitive ELISA (ic-ELISA) was developed using monoclonal antibody (mAb) produced *in vitro* by cultivation of hybridoma strain AF4 (highly specific mAb producer which react 100% with aflatoxin $AFB_1$). This immunoassay was validated as a promising rapid, sensitive and simple immunotechnique for aflatoxin screening in egg. The in-house validated ic-ELISA with limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) of 0.35 $\mu$g $kg^{-1}$ and 0.71 $\mu$g $kg^{-1}$, respectively, and $R^2$ >0.99 showed more sensitive than official high cost methods, and it also increased the detection pattern for lower level contaminated samples. The validated ic-ELISA used a very low concentration of main reagent, the mAb (1.5 mg $mL^{-1}$, titer of 1:30,000), reducing the cost, and it reached matrix interference lower than 10% for egg substrate. Mean recovery rate was 98% in egg, spiking $AFB_1$ from 1.0 to 5.0 $\mu$g $kg^{-1}$ in samples. Precision was expressed by repeatability and intermediate precision, both with relative standard deviations below 15%. This intra laboratory validated assay was applied to evaluate aflatoxin contamination in egg of two large-scale local producers. $AFB_1$ was detected in 8 % samples from producer A with mean level of 0.84 $\mu$g $kg^{-1}$, while producer B showed contamination in 15 % samples, with mean level of 0.94 $\mu$g $kg^{-1}$. This monitoring reduced the analysis cost by approximately 70-folds, when compared with commercial kits. It also indicated low occurrence as well as low contamination level, without any visual deformation in egg, concerning quality evaluation. Such high sensitive immunoassay would be crucial to assure a wide-range aflatoxin control through reliable tracking in developing country, and successively provide risk-free egg for consumers.
**KEYWORDS:** immunoassay**,** monoclonal antibody, aflatoxin, poultry, validation.

## VALIDAÇÃO DE IC-ELISA: DESENVOLVIMENTO DE IMUNOENSAIO ACESSÍVEL PARA ANÁLISE DE AFLATOXINA EM OVO

**RESUMO**: A aflatoxina é um contaminante tóxico perigoso em alimentos e rações, com perdas freqüentes na produção animal. Um ELISA competitivo indireto de baixo custo (ic-ELISA) foi desenvolvido usando anticorpo monoclonal (mAb) produzido *in vitro* pelo cultivo da cepa de hibridoma AF4 (produtor de mAb altamente específico que reage 100% com aflatoxina AFB1). Este imunoensaio foi validado como uma promissora imunotécnica rápida, sensível e simples para a triagem de aflatoxina em ovo. O ic-ELISA validado internamente com limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de 0,35 $\mu$g kg-1 e 0,71 $\mu$g kg-1, respectivamente, e R2> 0,99 mostrou-se mais sensível do que os métodos oficiais de alto custo, e também aumentou o padrão de detecção para amostras contaminadas de nível inferior. O ic-ELISA validado utilizou concentração baixíssima do reagente principal, o mAb (1,5 mg mL-1, título 1: 30.000), reduzindo o custo, e alcançou interferência da matriz inferior a 10% para o substrato de ovo. A taxa média de recuperação foi de 98% em ovo, aumentando AFB1 de 1,0 a 5,0 $\mu$g

kg-1 nas amostras. A precisão foi expressa por repetibilidade e precisão intermediária, ambas com desvios padrão relativos abaixo de 15%. Este ensaio validado intralaboratorialmente foi aplicado para avaliar a contaminação por aflatoxina em ovos de dois grandes produtores locais. AFB1 foi detectado em 8% das amostras do produtor A com nível médio de 0,84 μg kg-1, enquanto o produtor B apresentou contaminação em 15% das amostras, com nível médio de 0,94 μg kg-1. Esse monitoramento reduziu o custo da análise em aproximadamente 70 vezes, quando comparado aos kits comerciais. Indicou também baixa ocorrência e baixo nível de contaminação, sem qualquer deformação visual no ovo, no que se refere à avaliação da qualidade. Tal imunoensaio de alta sensibilidade seria crucial para garantir um controle de aflatoxina de amplo alcance por meio de rastreamento confiável em países em desenvolvimento e, sucessivamente, fornecer ovos sem risco para os consumidores.
**PALAVRAS - CHAVE**: Imunoensaio, anticorpo monoclonal, aflatoxina, aves, validação.

## 1 I INTRODUCTION

Chicken meat and egg are popular and economically accessible protein rich animal source, comparable with beef and pork. The mean chicken consumption is 30 kg per capita worldwide, while the United States, Brazil and Argentina exceed the intake of 40 kg per capita (AVISITE, 2017). A consensus established low effect of dietary egg cholesterol in serum LDL-cholesterol and cardiovascular disease, stimulating its intake as a rich source of valuable proteins, unsaturated fats, fat-soluble vitamins (mainly A & E), vitamin B12 and antioxidants, with approximate world consumption of 230 units per capita / year (ABPA, 2021; GRIFFIN, 2016).

Brazil is the leading exporter as well as the second chicken meat producer worldwide, where the egg provider trading may be an emerging opportunity. Such a perspective should be matched with control program targeted on animal health, adequate production, and monitoring of hazardous residual contaminants.

Aflatoxins (AF), with emphasis in $AFB_{1,}$ have been the warning toxic contaminant in food and feed, where the International Agency for Research on Cancer classified as Group 1 - carcinogenic to human (D'MELLO; MACDONALD, 1997; IARC, 2002; SU, 2020). The $AFB_1$, $AFB_1$-exo-8,9-epoxide (AFBO) and other metabolites also affect the epigenetic mechanisms including the DNA methylation, histone modifications, and subsequent gene expression. Chronic AFs exposure leads to formation of reactive AFBO metabolites that could activate and de-activates the various epigenetic mechanisms, leading to development of cancer (BBOSA et al., 2013).

Analysis of aflatoxin is performed mostly by high-performance liquid chromatography (HPLC) and its improved ultra-version (U-HPLC) coupled with detectors, such as ultraviolet (UV), fluorescence (FLR) and mass spectrometry (MS), and advancing to multimycotoxin analysis (AMIRKHIZI et al., 2015; IQBAL et al., 2014; LI et al., 2015; SOLFRIZZO et al., 2018; TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009). Although of sensitivity and accuracy,

the high cost as well as extensive clean-up required for matrix interference reduction, use of harmful and toxic organic solvents have been the topic in concern in widespread use in developing countries.

The rapid detection based on highly specific monoclonal antibodies (mAb) emerged as an alternative which combines sensitivity and simplicity, with advantage of using non-toxic buffer, it dispenses extensive clean-up, and highly trained analytical staffs (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009; WACOO et al., 2014). Current international approach in integrated proficiency of mycotoxin Check Sample Survey showed progressive use of ELISA as a suitable method shared by industry and laboratories. As example, an interlaboratory validation test involving forty countries indicated choice of ic-ELISA in 54 % (AF) and 61 % (fumonisin) of analysis, when compared with reference techniques – HPLC, UPLC, MS (AVDIC; KOGLER, 2018).

Indirect competitive ELISA has been the choice in mycotoxin detection focused on immunochemistry matched with chromatography; such a local low cost was developed and applied in intensive multi-year mycotoxin monitoring, outbreaks and natural contamination survey since 1980s (HIROOKA et al., 2015). Years of corn (*Zea mays* L.) monitoring in leading exporter Paraná state, Brazil indicated high fumonisin occurrence with 98%, but low frequency of AF with 11 %, which was prevailed in central-western Paraná (ONO et al., 2001). The mean of 1.25 µg $kg^{-1}$ of total AF in corn and feed for broilers indicated that general contamination was lower than Brazilian guideline for animal feeding (BAGATIN et al., 2016). Although of meaningfully low AF frequency in corn of Northern Paraná, chicken feed collected from crop year 2010 showed a total of 88 % of the feed contaminated with mean of 8.4 µg $kg^{-1}$ (ROSSI et al., 2012). The increasing food consumption point-out the relevance of AF control even though of low level due to cumulative effect, amount of food-intake and exposure time (MARIN et al., 2013).

The disadvantage of mAb based reagents for AF control is the high cost of commercial kits and immunoaffinity columns for routine analysis (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009). Another limitation is that commercial kits were developed regarding mycotoxins analysis in cereals, but not for complex matrices such as meat and egg. In order to solve these limitations, the study aims to standardize and validate a low cost quantitative ic-ELISA for AF analysis targeted on chicken egg, using mAb with high cross-reaction with $AFB_1$ and aflatoxicol (AFL), a reversible stored metabolite derived from cytoplasmic reductase system. Its application is tested to evaluate AF level in egg, and its relation with physical quality parameters is matched.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Materials

The AF4 hybridoma cell line secreting specific anti-$AFB_1$ mAb ($IgG_1$ lambda isotype) was generated by cell fusion of myeloma cell line SP2/0-AG14 and activated mouse BALB/c spleenic cell at the Kagawa University, Japan (KAWAMURA et al., 1988); the mAb was produced in a joint research at the State University of Londrina, Brazil. This highly specific mAb cross-reacted with $AFB_1$ (100%) and AFL (122% with AFL I, natural isomer [1S]; 14.1% with AFL II, natural isomer [1R]), but it showed very low cross-reactivity against $AFB_2$ (2.3%), $AFG_1$ (3.4%), $AFG_2$ (2.4%), $AFM_1$ (4.5%) and $AFQ_1$ (10.8%).

Egg samples from two large-scale producers, A and B, both in Northern Paraná State, Brazil were weekly collected from April to August 2016 in a total of 20 samplings (50 eggs each in farm A, and 25 each in farm B per day). The eggs were weighed, then hatched for white and yolk weighing, and the shell thickness was measured. Each sample consisted of a pool of five homogenized eggs, resulting in 300 samples, and maintained at 4 ° C until the analysis.

$AFB_1$ standard solution was obtained from Sigma-Aldrich Co. (St Louis, Missouri, USA). Methanol, sodium chloride and other salts were purchased from J.T.Baker (New Jersey, USA).

### 2.2 Production of monoclonal antibody (mAb)

The mAb anti-AF was produced *in vitro* culturing hybridoma AF.4 in RPMI medium (Roswell Park Memorial Institute Medium, Gibco Co., Waltham, USA) + 10% fetal bovine serum (Gibco Co., Waltham, USA), followed by gradual adaptation in H-SFM medium (Hybridoma Serum Free Medium, Gibco Co., Waltham, USA), i.e., RPMI:H-SFM (75:25, v/v) to 100% H-SFM. The supernatant with mAb was filtered and precipitate with $(NH_4)_2SO_4$ at 50% saturation (243 g/L) for purification. The precipitated was dissolved in 0.1 M PBS pH 7.3 and dialyzed against PBS (4 ˚C, 64 h). Then 0.02% Sodium azide (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) was added into dialyzed mAb,, aliquoted (1 mL), and stored at -20 ˚C until use. The mAb concentration (IgG) was determined at 280 nm (Biochrom® Anthos Zenyth 200, USA), using absorption coefficient (E280) of 1.35 for IgG (HARLOW; LANE, 2014a). Polyacrylamide gel electrophoresis (5% acrylamide, stacking gel; 10%, running gel) was carried out for mAb purity checking. An aliquot of 4.5 µl of mAb corresponding 2.5 µg of protein was diluted in 3-fold concentrated sample buffer, boiled (3 min, water bath), then applied onto gel together with 5 µl marker standard (Benchmark Protein Ladder, Invitrogen, Carlsbad, USA). After 2 h running under 80V, the gel was stained with Coomassie blue solution (Coomassie Brilliant Blue R, Sigma, St. Louis, Mo, USA) decolorized with acetic acid: methanol: water (1: 4: 5), and distinct protein bands were visualized (LAEMMLI, 1970).

### 2.3 Aflatoxin extraction

An aliquot of 5 g of egg sample was shaken with 25 mL methanol : water (70 : 30, v/v) and 0.5 g sodium chloride for 30 min at 150 rpm. The extract was filtered (45 µm pore size filter, Macherey-Nagel, Germany), and 500 µL of filtrate was dried at 40˚C under nitrogen flow and diluted in PBS: methanol (9:1, v/v).

### 2.4 ic-ELISA procedure

Polystyrene microtiter plate wells (Corning, New York, USA) were coated with 50 µL of $AFB_1$-BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) in PBS (0.015 M, pH 7.3) at 4 ˚C for 24 h. The microplate was washed three times after each incubation step with PBST (PBS + 0.05% Tween). The non-specific binding in wells were blocked with 150 µL of 0.1% BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) in PBS at 25 ˚C for 1 h. The microplate was washed, and 50 µL of $AFB_1$ standards (0.05 – 5.0 ng $mL^{-1}$) or 50 µL of sample were added with 50 µL of anti-$AFB_1$ mAb, and incubated at 25 ˚C for 1 h. After washing, 50 µL of horseradish peroxidase labelled goat anti-mouse IgG (anti-IgG-HRP, from Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) were added, and incubated at 25 ˚C for 1 h. The microplate was again washed, and 100 µL of substrate (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine / $H_2O_2$, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) were added. The reaction was stopped after 20 min by adding 50 µL of 1 M $H_2SO_4$, and absorbance was read at 450 nm (ELISA microplate reader, Biochrom® Anthos Zenyth 200, USA). The mean absorbance was calculated from the individual absorbance obtained in triplicate wells, and the results were expressed as percentage of binding:

$$\text{Binding (\%)} = (A^+/A^-) \times 100,$$

where $A^+$ is the mean absorbance in the presence of aflatoxin standard or sample, and $A^-$ is the mean absorbance in their absence.

### 2.5 Intra-laboratory validation

In-house validation of icELISA was carried out evaluating specificity, linearity, accuracy, precision, detection (LOD) and quantification limit (LOQ), according the specifications of Brazilian and international guidelines [ANVISA, 2021; EUROPEAN COMMISSION (EC) 401, 2006; EUROPEAN COMMISSION (EU) 519, 2014; INMETRO, 2007, 2017; MAPA, 2015]. Specificity was evaluated by interference of non-contaminated matrix (egg) diluted from 2 to 15-fold. Matrix interference was evaluated comparing the standard curve prepared in PBS: methanol (9:1, v/v) with curve prepared in matrix extract. The linearity was expressed according to the linear regression analysis of seven calibration curves of $AFB_1$ from 0.05 to 5.0 ng $mL^{-1}$. Accuracy and precision (repeatability and intermediate precision) were based on relative standard deviations (RSD %) of the $AFB_1$ recovery tests. Uncontaminated egg samples were artificially added with $AFB_1$ at 1.0, 2.0 and 5.0 $\mu$g $kg^{-1}$ for egg, the mixture was vortexed for 1 min, and stored at 8 ˚C for 24 h before extraction. Accuracy was assessed

by $AFB_1$ recovery from three determinations (three extractions) in triplicate. Repeatability was evaluated by one determination of each analyzed concentration in seven replicates in the same day. Intermediate precision was evaluated by three determinations of each analyzed concentration in seven replicates on three different days. The LOD and LOQ were calculated, respectively, as 3.143-fold and 5-fold the standard deviation of absorbance of seven replicates of uncontaminated sample in three different days. Blank reaction was carried out in three replicate in each analysis, to check that any solvent, reagent, or instrumentation caused some detectable positive biases in toxin concentration.

### 2.6 Egg quality

Egg was weighed in a 0.001 g precision analytical balance (Shimadzu AW 220, Philippines) to obtain the mean weight (pool of five eggs). The egg yolks of each sample were weighed; the shells were washed and dried at room temperature to obtain their weight and from the weight, the percentage of shell in the egg was calculated. The weight of egg white was obtained by difference between the mass of whole egg and sum of masses of yolk and shell. The thickness of dried shell was measured at two distinct points using manual micrometer (Mitutoyo Micrometer 25 mm, Japan).

### 2.7 Statistical analysis

The specificity data was subjected to one-way ANOVA followed by Tukey test using Statistica v. 7 (StatSoft®, USA). The AF contamination data and egg quality parameters were submitted to Wilcoxon test using software RStudio (1.0.153). The significance was accepted at $p < 0.05$.

## 3 I RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1 Anti-aflatoxin monoclonal antibody (MAb)

The cross-reactivity of mAb against AF analogues was evaluated when hybridoma AF4 strain was generated (KAWAMURA et al., 1988). The high cross-reactivity of mAb generated by AF4, i.e. 100% with $AFB_1$ and 122 with AFL 122%, could be regarded as an advantageous profile concerning AF detection skill in biological materials. AFL is the main adduct derived from reductase action on $AFB_1$ cyclo-pentenone carbonyl both *in vitro* and *in vivo.* Such an interconversion in several avian and mammalian species plays $AFB_1$ reservoir role in tissue (NAKAZATO et al., 1990; WONG et al., 1979).

The protein concentration in mAb batch (IgG) was 1.5 mg $mL^{-1}$, reaching a total of 508.6 mg of purified anti-AF mAb. The electrophoresis showed band of approximately 25 kDa, and another of 50 kDa (Fig. 1). These two bands were derived from breakdown of IgG glycoprotein tetramer of approx.150 kDa molecular mass in two 25 kDa light chains and two 50 kDa heavy chains (HARLOW; LANE, 2014b). Another band corresponding to 75 kDa

indicated an incomplete breakdown, i.e., remaining of light-heavy chain bound. Such bands corresponding IgG light (25 kDa) and heavy (50 kDa) chains demonstrated the successful production and purification of mAb.

### 3.2 ic-ELISA procedure

Different dilutions were tested to determine the titers of mAb (0.5 mg $mL^{-1}$) and anti-IgG-HRP (0.005 mg $mL^{-1}$) for use in ic-ELISA (Fig. 2A). The mAb diluted (1: $10^1$ to 1: $10^5$) was tested with 1: 2,000; 1: 4,000 and 1: 6,000 diluted anti-IgG-HRP. The parameter used to define the titers was IC 50 (Inhibition Concentration at 50%), normally used to express the sensitivity of immunoassay, in which the best accuracy for immunoassay was defined by dilution of mAb required to achieve 50% of binding when compared with initial concentration (DRESSER, 1986). The mAb diluted at 1: 10,000 was selected for ic-ELISA in this study, as its binding percentage was approx. 50% in all anti-IgG-HRP dilutions tested, with 62%, 51% and 49% binding for anti-IgG-HRP at 1: 2,000, 1: 4,000 and 1: 6,000, respectively. The optimized anti-IgG-HRP dilution was 1: 6,000, with mean absorbance value lower than 0.9 to avoid deviations in Beer-Lambert Law (SKOOG; WEST; HOLLER, 1992).

In comparison, an indirect ELISA optimization study for $AFB_1$ in cereals testing dilutions of commercial mAb reached the optimum in 1: 5,000 (LÚCIO; PINTO; MARRIE, 2007). The mAb (1.5 mg $ml^{-1}$) applied for egg analysis in this study could be diluted at 1: 30,000. High dilutions of highly specific mAb reduced the amount of reagents, and further reduction of analysis cost in approx.70-fold, when compared with commercial kit (Table 1). Such viable alternative assay would achieve a wide AF screening, reducing losses in animal production, as well as to provide hazard-free egg. Brazil is promising country as egg provider in globalized world.

### 3.3 Intra-laboratory validation of ic-ELISA

Intra-laboratory validation (Table 2) was based on specificity, linearity, accuracy, precision, detection limit (*LOD*) and quantification limit (*LOQ*). In addition, the matrix interference (specificity) is an important parameter to be evaluated, especially in food with complex matrix as egg with diversified constituents and high fat content. The matrix interference may cause false-positives in immunoassay, which is one of main restriction in ic-ELISA; such reaction is observed as decrease in color intensity, with fault in interpretation, suggesting toxin presence. The enzyme activity is inhibited by interfering components of matrix, and / or it affects the accurate toxin (antigen) – antibody reaction (LEE et al., 2004).

In order to minimize the interference, specificity was evaluated carrying out the dilution of uncontaminated egg in a factor of 2 to 15-fold (data not shown). Egg diluted at 2 and 5-fold showed any significant difference, with mean interference values of 3.4 % ± 1.2 and 2.5 % ± 1.0, respectively; however, the factor of 10-fold increased the interference (5.8 ± 3.9), maybe due to overcoming of dilution-point for protective components, and damaging

the protein structure (mAb). Therefore, the procedure with dilution factor of 2-fold, low matrix interference (3.4 %), lower RSD (35 %) and better $AFB_1$ recovery (99 %) was selected for further assay ($p > 0.05$).

The linearity was evaluated with aflatoxin standard curve ranging from 0.05 to 5.0 ng $ml^{-1}$, which was prepared in egg extract diluted at 2-fold, and compared with a standard curve in PBS : methanol (9 : 1, v/v) (Fig. 2B). A one-way ANOVA was followed by Tukey test between curves; no difference was shown among them ($p > 0.05$). Furthermore, all the points were superimposed, indicating that dilution of egg in a factor of 2-fold eliminated the matrix interference; i.e., 2-fold diluted egg samples can be analyzed by standard curve prepared without matrix. A linear range was obtained from 0.05 to 5.0 ng $ml^{-1}$ of $AFB_1$, which was expressed by regression equation $y = -14.85 \ln(x) + 47.131$; the $R^2$ was 0.9922 ($p < 0.05$), i.e. higher than the minimal acceptance of 0.99 (INMETRO, 2017).

Table 2 showed the recovery and precision rates of $AFB_1$ in egg. Egg samples added with 1.0, 2.0 and 5.0 $\mu g\ kg^{-1}$ of $AFB_1$ showed recovery rates of 96, 101 and 99 %, respectively, indicating that every data was within the recommended value of 70 – 110 % of recovery, which is required for samples contaminated within 1 – 10 $\mu g\ kg^{-1}$ (EC 401/2006). LEE et al. (2016) studied aflatoxins in egg by HPLC coupled to FLR, and showed recovery rates of 109, 118 and 102 % using same $AFB_1$ concentrations of our study: 1.0, 2.0 and 5.0 $\mu g\ kg^{-1}$, respectively; such data ratified that ic-ELISA can reach recovery levels equal to and even better than those obtained by the recommended standard technique (HPLC), such as the rate for 2 $\mu g\ kg^{-1}$ that in our study is within the recommended by European Community, but exceeds the rate of 110 %, when analyzed by chromatography.

The precision of the method was evaluated by repeatability and intermediate precision, based on relative standard deviations (RSD %) of the aflatoxin recovery tests (Table 2). The mean repeatability rate was 12 % for egg, and the mean intermediate precision rate was 15 %, with all results are within the recommended by local and international regulations. A study for detection of $AFB_1$ in chicken liver and egg by HPLC-UV (AMIRKHIZI et al., 2015) reported repeatability rate (4 %) and intermediate precision rate (8 %). IQBAL et al. (2014) analyzing AF in chicken meat and egg by HPLC-FLR reported repeatability rate of 9 % and intermediate precision rate of 10 %.

The LOD of this method was 0.35 $\mu g\ kg^{-}1$, and LOQ of 0.71 $\mu g\ kg^{-1}$ for egg (Table 3). AMIRKHIZI et al. (2015) reported the LOD for chicken liver and egg lower than obtained in this study (0.08 $\mu g\ kg^{-1}$) by HPLC-UV. However, ANFOSSI et al. (2015) obtained LOD of 3.0 $\mu g\ kg^{-1}$ for detection of $AFB_1$ in egg by competitive direct ELISA), which was higher than our method. The LOQ of this method was 1.5 $\mu g\ kg^{-1}$ for liver and 0.7 $\mu g\ kg^{-1}$ for egg; these limits were lower than the LOD reported for detection of aflatoxin in egg by UPLC-MS, which was equal to 3.0 $\mu g\ kg^{-1}$ (LI et al., 2015).

The Table 3 shows the effectiveness of developed icELISA, when compared with commercial ELISA kits showing LOD of 0.5 to 1.00 $\mu g\ kg^{-1}$ and LOQ of 2.50 $\mu g\ kg^{-1}$ (DEEB;

AMAN; EL-HAWARY, 2017; TULAYAKUL et al., 2018; PEREIRA ET AL. 2020; GONZÁLEZ-PEÑAS, 2020). The intra-laboratory validation of ic-ELISA demonstrated that the developed immunoassay reached levels of specificity, sensitivity and precision similar to, and in some cases, even better than those obtained by the standard technique (HPLC). This advantage, associated with a reduction in cost by approx. 70-fold, when compared with commercial kits indicated promising application in AF screening in egg, where the consumption is increasing. Furthermore, aflatoxicosis is usually non-identified due to failure in feed sampling, mycotoxin analysis, or the symptoms in animals begin when the feed is no more available for analysis.

### 3.4 Aflatoxin contamination and its relation with egg quality

Natural AF monitoring in egg from two large-scale producers was carried out to evaluate its applicability, aiming to support the productive sector and further application in agroindustry. Egg is formed by incorporing secreted albumin around yolk, with higher contamination probability than other meat tissues.

It is important to point-out critical strategy for control, although the level of AF contamination in crude materials (maize and feed) in this producing region was low; the positivity may eventually be high, as verified in a study, where 92 % of laying hen feed from crop year 2010 were contaminated with aflatoxin, with a mean of 19.8 µg $kg^{-1}$ (ROSSI et al., 2012; HIROOKA et al., 2015).

Table 4 shows the physical data of egg quality where there was no difference concerning egg shell thickness and percentage of shell among farms. The thickness was 0.370 mm ± 0.04 and 0.373 mm ± 0.04 in samples from farm A and B, respectively; percentage of shell was 10.4 % ± 0.86 and 10.2 % ± 0.71 for farm A and B, respectively. The shell expresses 9 to 14 % of egg weight, and thickness & percentage is directly affected by hen's age, where the shell weight remains fairly constant, while egg weight increases along age (CARVALHO; FERNANDES, 2013). There was a difference in the weight of whole egg, and in the weights of the yolk and white among farms ($p < 0.05$). The mean weight in whole egg was 56.24 g ± 3.33 (farm A) and 58.85 g ± 3.40 (farm B), while the mean weight for yolk was 16.72 g ± 1.41 (farm A) and 17.85 g ± 1.42 (farm B); the mean weight for white was 33.68 g ± 2.35 (farm A) and 34.98 g ± 2.93 (farm B). Such differences may be due to the lineages of laying hens; wideley disseminated lineage *Hisex White* in Farm A, while *Nick Chick* in farm B consisted a lineage more resistant to conditions of creation.

Table 5 shows $AFB_1$ contamination in egg; 8 % of samples in farm A were positive for $AFB_1$ (mean, 0.84 ± 0.11 $\mu$g $kg^{-1}$; range, 0.70 – 1.12 $\mu$g $kg^{-1}$); the positivity in farm B was 15 % (mean, 0.94 ± 0.22 $\mu$g $kg^{-1}$; range, 0.70 – 1.29 $\mu$g $kg^{-1}$), but without difference among two farms ($p < 0.05$). Anfossi et al. (2015) didn't detected aflatoxin by direct competitive ELISA (LOD, 0.3 $\mu$g $kg^{-1}$), when analyzed 50 egg samples in large & small distributors in northwestern Italy, January to March, 2014. Amirkhizi et al. (2015) analyzed the occurrence of aflatoxin by HPLC-UV in 150 egg samples, collected randomly in the Tabriz-Iran market;

the contamination was similar with this study (Table 5 & 7), but with higher percentage of positive samples. The authors found $AFB_1$ in 58% of samples from farm (mean, 0.74 ± 0.04 µg $kg^{-1}$) and domestic eggs (0.94 ± 0.07 *µ*g $kg^{-1}$), attributing such high contamination percentage to low quality of feed.

Table 6 compared egg quality (weights, shell percentage & thickness) and $AFB_1$ contamination in both farms. There was no difference concerning weights of whole egg, yolk and white, nor between the percentage or thickness of shell in eggs with $AFB_1$ contaminated and uncontaminated samples ($p > 0.05$). Jia et al. (2016), comparing egg quality with AF levels, found a decrease in egg shell thickness in samples contaminated with 0.02 µg $kg^{-1}$ of $AFB_1$ + 0.11 µg $kg^{-1}$ of $AFB_2$, but without difference in yolk weight & color, egg white height, shape index, egg shell color and haugh unit ($p < 0.05$). Although of higher level of contamination, the mixing of five eggs to make a single sample probably may have minimized the variability in eggs of this study (Table 6). Nevertheless, AF can reduce shell thickness due to poor calcium and phosphorus absorption, interference in vitamin $D_3$ metabolism or reducing parathyroid hormone level (YILDIRIM et al., 2011).

Table 7 detailed the quality parameters and contamination of $AFB_1$ in positive egg samples; there was no difference ($p < 0.05$) in aflatoxin level when hen of farm A had been fed with corn of crop year 2015 (0.84 ± 0.12 µg $kg^{-1}$) and 2016 (0.83 ± 0.04 µg $kg^{-1}$), as well as in farm B (1.00 ± 0.23 µg $kg^{-1}$, 2015 crop; 0.76 ± 0.07 µg $kg^{-1}$, 2016 crop). However, 56% of positive egg samples were collected in April 2016 in farm A; similar percentage occurred in farm B, with 53% of positive samples in same month. Such contamination in April may be due to the high temperature and younger age of hens; such temperature, as well the humidity can favor the fungal growth, toxin production, and younger animals are more susceptible to aflatoxin contamination (HUFF et al., 1986).

## 4 | CONCLUSION

The ic-ELISA developed with mAb from hybridoma strain AF4 can be a reliable in-house rapid assay with cost reduced in 70-fold, with advantageous specificity for analysis of biological material (egg), proving a promising application *in loco*. The $AFB_1$ screening in egg indicated low incidence and contamination level, without affecting the egg quality, which contributes in value aggregation of egg as safe ingredient in food industry.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the NANOBIO/CAPES Foundation (the Co-ordination for Formation of High Level Professionals) - Ministry of Education, the CNPq (the Brazilian Government Organization for fellowship to Brazilian researchers) - Ministry of Science & Technology, and the Parana State Fund/SETI for the financial support through projects. The authors also thank the CNPq for the productivity and Initiation in Science fellowships

granted to Brazilian researchers.

## REFERENCES

ABPA. **Relatório Anual 2021**. São Paulo: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2011.

AMIRKHIZI, B.; AREFHOSSEINI, S. R.; ANSARIN, M.; NEMATI, M. Aflatoxin B 1 in eggs and chicken livers by dispersive liquid–liquid microextraction and HPLC. **Food Additives & Contaminants: Part B**, London, v. 8, n. 4, p. 245–249, 2015. DOI: 10.1080/19393210.2015.1067649.

ANFOSSI, L.; DI NARDO, F.; GIOVANNOLI, C.; PASSINI, C.; BAGGIANI, C. Enzyme immunoassay for monitoring aflatoxins in eggs. **Food Control**, Amsterdam, v. 57, p. 115–121, 2015. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.04.013.

ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN N° 88 de 26 de março de 2021 estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2021. Setion 1, n. 61, p. 225–235.

AVDIC, D.; KOGLER, E. **Aflatoxins/Fumonisins in Corn:** Final Report. Tulln: Romers Lab Check Sample Survey, 2018.

AVISITE. **Consumo mundial de carne de frango em 2017, pelo USDA**. 2017. Accessed 01 oct. 2018. Available from: https://www.agrolink.com.br/noticias/consumo-mundial-de-carne-de-frango-em-2017--pelo-usda_399366.html.

BAGATIN, A. K.; HASHIMOTO, E. H.; HIROOKA, E. Y.; KAWAMURA, O. The contamination with aflatoxins in Brazilian corn and feed for chickens and the risk evaluation. **Tech. Bull. Fac. Agr. Kagawa Univ.**, Miki, v. 68, n. 121, p. 25–31, 2016.

BBOSA, G. S.; KITYA, D.; ODDA, J.; OGWAL-OKENG, J. Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. **Health**, Wuhan, v. 05, n. 10, p. 14–34, 2013. DOI: 10.4236/health.2013.510A1003.

CARVALHO, L. S. S.; FERNANDES, E. A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinaria (Brazil)**, Recife, v. 7, n. 1, p. 35–44, 2013.

DEEB, Azza M.; AMAN, Ibrahim M.; EL-HAWARY, Ibrahim. Determination of Aflatoxin M 1 and B1 in Egyptian Raw Milk , Soft Cheese and Table Eggs using ELISA. **International Journal of Innovative Reserarch in Science & Engineering**, Bangalore, v. 4, n. 11, p. 154–159, 2017.

D'MELLO, J. P. F.; MACDONALD, A. M. C. Mycotoxins. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 69, n. 1–3, p. 155–166, 1997. DOI: 10.1016/S0377-8401(97)81630-6.

DRESSER, D. W. Immunization of experimental animals. *In*: WEIR, D. M.; HERZENBERG, L. A.; BLACKWELL, C.; HERZENBERG, L. A. (org.). **Handbook of Experimental Immunology**. 4. ed. Oxford; Boston: Blackwell Scientific Publications, 1986. v. 1, p. 8.1-8.21.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, 2006. Section 401, p. 12–34.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EU) No 519/2014 of 16 May 2014 amending Regulation (EC) No 401/2006 as regards methods of sampling of large lots, spices and food supplements, performance criteria for T-2, HT-2 toxin and citrinin and screening methods of analysis T. **Official Journal of the European Union**, 2014. Section 519, p. 29–43.

GRIFFIN, B. A. Eggs: good or bad? **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 75, n. 3, p. 259–264, 2016. DOI: 10.1017/S0029665116000215.

HARLOW, E.; LANE, D. Protein Techniques. *In*: GREENFIELD, E. A. (org.). **Antibodies**: a laboratory manual. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014. a. cap. 19, p. 777–798.

HARLOW, E.; LANE, D. The antibody molecules. *In*: GREENFIELD, E. A. (org.). **Antibodies**: a laboratory manual. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014. b. cap. 2, p. 9–20.

HIROOKA, E. Y. et al. Safety and Quality in the Agricultural Product Chain in Brazil. *In*: EISSA, Ayman Hafiz Amer (org.). **Food Production and Industry**. London: InTech, 2015. cap. 5, p. 137–165. DOI: 10.5772/60593.

HUFF, W. E.; KUBENA, L. F.; HARVEY, R. B.; CORRIER, D. E.; MOLLENHAUER, H. H. Progression of Aflatoxicosis in Broiler Chickens. **Poultry Science**, Amsterdam, v. 65, n. 10, p. 1891–1899, 1986. DOI: 10.3382/ps.0651891.

IARC. Aflatoxins. *In*: **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**: some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Vol. 82. Lyon: IARCPress, 2002. p. 170–300.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008**: Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. Rev. 02. Brasília: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, 2007. 25 p.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008**: Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rev. 06. Brasília: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, 2017. 30 p.

IQBAL, S. Z.; NISAR, S.; ASI, M. R.; JINAP, S. Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. **Food Control**, Amsterdam, v. 43, p. 98–103, 2014. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.02.046.

JIA, R.; MA, Q.; FAN, Y.; JI, C.; ZHANG, J.; LIU, T.; ZHAO, L. The toxic effects of combined aflatoxins and zearalenone in naturally contaminated diets on laying performance, egg quality and mycotoxins residues in eggs of layers and the protective effect of *Bacillus subtilis* biodegradation product. **Food and Chemical Toxicology**, Amsterdam, v. 90, p. 142–150, 2016. DOI: 10.1016/j.fct.2016.02.010.

KAWAMURA, O.; NAGAYAMA, S.; SATO, S.; OHTANI, K.; UENO, I.; UENO, Y. A monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay of aflatoxin B1 in peanut products. **Mycotoxin research**, Basingstoke, v. 4, n. 2, p. 75–88, 1988. DOI: 10.1007/BF03192102.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**, Basingstoke, v. 227, n. 5259, p. 680–685, 1970. DOI: 10.1038/227680a0.

LEE, M.; SEO, D. J.; JEON, S. B.; OK, H. E.; JUNG, H.; CHOI, C.; CHUN, H. S. Detection of Foodborne Pathogens and Mycotoxins in Eggs and Chicken Feeds from Farms to Retail Markets. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Seoul, v. 36, n. 4, p. 463–468, 2016. DOI: 10.5851/kosfa.2016.36.4.463.

LEE, N. A.; WANG, S.; ALLAN, R. D.; KENNEDY, I. R. A Rapid Aflatoxin B 1 ELISA: Development and Validation with Reduced Matrix Effects for Peanuts, Corn, Pistachio, and Soybeans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 52, n. 10, p. 2746–2755, 2004. DOI: 10.1021/jf0354038.

LI, Y.; WEN, S.; CHEN, Z.; XIAO, Z.; MA, M. Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for simultaneous analysis of aflatoxins B1, G1, B2, G2, zearalenone and its metabolites in eggs using a QuEChERS-based extraction procedure. **Analytical Methods**, London, v. 7, n. 10, p. 4145–4151, 2015. DOI: 10.1039/C5AY00124B.

LÚCIO, C. H.; PINTO, N. F. J.; MARRIE, I. E. **Otimização do método de Elisa indireto não-competitivo para detecção e quantificação de aflatoxina B1 em cereais**. Sete Lagoas: MAPA/EMBRAPA, 2007. 7 p. (Comunicado Técnico 152, ISSN 1679-0162).

MAPA. **Manual de garantia da qualidade analítica**: áreas de identidade e qualidade de alimentos e de insumos / Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2015. 51 p.

MARIN, S.; RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food and Chemical Toxicology**, Amsterdam, v. 60, p. 218–237, 2013. DOI: 10.1016/j.fct.2013.07.047.

MUÑOZ-SOLANO, B.; GONZÁLEZ-PEÑAS, E. Mycotoxin Determination in Animal Feed: An LC-FLD Method for Simultaneous Quantification of Aflatoxins, Ochratoxins and Zearelanone in This Matrix. **Toxins**, Basel, v. 12, n. 6, p. 374, 2020. DOI: 10.3390/toxins12060374.

NAKAZATO, M.; MOROZUMI, S.; SAITO, K.; FUJINUMA, K.; NISHIMA, T.; KASAI, N. Interconversion of aflatoxin B1 and aflatoxicol by several fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v. 56, n. 5, p. 1465–1470, 1990. DOI: 10.1128/AEM.56.5.1465-1470.1990.

ONO, E. Y. S.; ONO, M. A.; FUNO, F. Y.; MEDINA, A. E.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; KAWAMURA, O.; UENO, Y.; HIROOKA, E. Y. Evaluation of fumonisin-aflatoxin co-occurrence in Brazilian corn hybrids by ELISA. **Food Additives & Contaminants**, London, v. 18, n. 8, p. 719–729, 2001. DOI: 10.1080/02652030118906.

PEREIRA, C. S.; CUNHA, S. C.; FERNANDES, J. O. Validation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Test Kit for Determination of Aflatoxin B1 in Corn Feed and Comparison with Liquid-Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) Method. **Food Analytical Methods**, Basingstoke, v. 13, n. 9, p. 1806–1816, 2020. DOI: 10.1007/s12161-020-01805-4.

ROSSI, C. N.; TAKABAYASHI, C. R.; ONO, M. A.; SAITO, G. H.; ITANO, E. N.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S. Immunoassay based on monoclonal antibody for aflatoxin detection in poultry feed. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 132, n. 4, p. 2211–2216, 2012. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.12.067.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. An Introduction to Spectroscopic Methods. *In*: **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 6. ed. Florida: Saunders College Publishing, 1992. p. 508–535.

SOLFRIZZO, M.; GAMBACORTA, L.; BIBI, R.; CIRIACI, M.; PAOLONI, A.; PECORELLI, I. Multimycotoxin Analysis by LC-MS/MS in Cereal Food and Feed: Comparison of Different Approaches for Extraction, Purification, and Calibration. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 647–657, 2018. DOI: 10.5740/jaoacint.17-0339.

SU, Q.-Y. The Toxification and Detoxification Mechanisms of Aflatoxin B1 in Human: An Update. *In*: LONG, X.-D. (org.). **Aflatoxin B1 Occurrence, Detection and Toxicological Effects**. London: IntechOpen, 2020. cap.11, p. 1–17. DOI: 10.5772/intechopen.89221.

TULAYAKUL, P.; MINGKHWAN, R.; HANANANTACHAI, H.; NETVICHIAN, R.; KHAODHIAR, S.; SONGSERM, T. Heavy Metal (Cd and Pb) and Aflatoxin Contamination in Tissues and Eggs from Free Grazing Ducks and Their Environment in Central Thailand. **Biological Trace Element Research**, Lynnfield, Oxford, v. 186, n. 2, p. 514–520, 2018. DOI: 10.1007/s12011-018-1321-2.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 632, n. 2, p. 168–180, 2009. DOI: 10.1016/j.aca.2008.11.010.

WACOO, A. P.; WENDIRO, D.; VUZI, P. C.; HAWUMBA, J. F. Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops. **Journal of Applied Chemistry**, London, v. 2014, p. 1–15, 2014. DOI: 10.1155/2014/706291.

WONG, Z. A.; DECAD, G. M.; BYARD, J. L.; HSIEH, D. P. H. Conversion of aflatoxicol to aflatoxin B1 in rats in vivo and in primary hepatocyte culture. **Food and Cosmetics Toxicology**, Amsterdam, v. 17, n. 5, p. 481–486, 1979. DOI: 10.1016/0015-6264(79)90007-5.

YILDIRIM, E.; YALÇINKAYA, L.; KANBUR, M.; ÇINAR, M.; ORUÇ, E. Effects of yeast glucomannan on performance, some biochemical parameters and pathological changes in experimental aflatoxicosis in broiler chickens. **Revue de Medecine Veterinaire**, Lyon, v. 162, n. 8–9, p. 413–420, 2011.

## FIGURES AND TABLE LIST

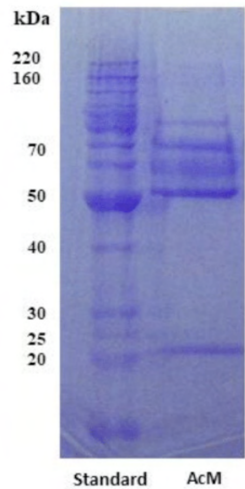



Fig. 1. Electrophoresis of anti-$AFB_1$ mAb ($IgG_1$ lambda isotype) secreted by hybridoma strain AF4.

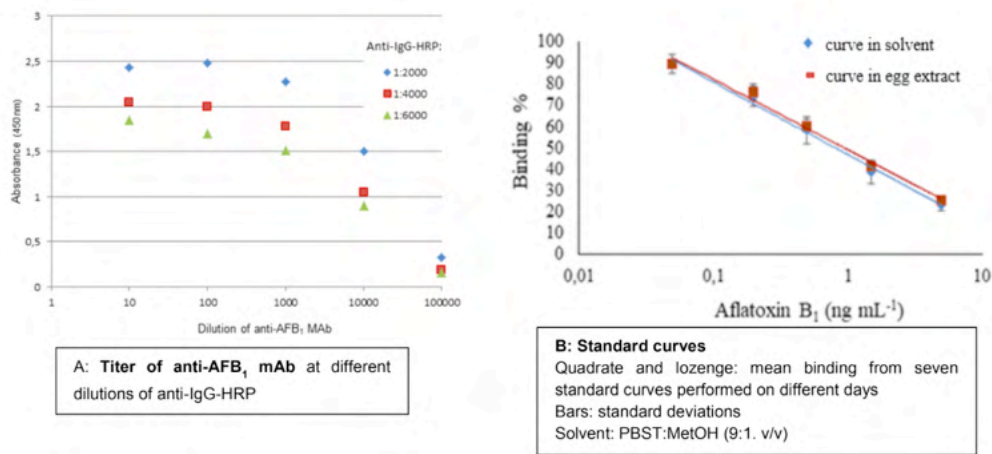



Fig. 2. Anti-$AFB_1$ mAb titer & anti-IgG-HRP, and standard curves for detection of aflatoxin by ic-ELISA.

| Reagent | Developed ic-Elisa[1] | Commercial kit[1] |
|---|---|---|
| $AFB_1$-BSA | US$ 0.22 | |
| BSA 0.1% | US$ 0.14 | |
| MAb anti-$AFB_1$ | -[2] | - |
| Anti-IgG-HRP | US$ 0.29 | |
| Microplate (96 wells) | US$ 2.86 | |
| **Total value** | US$ 3.51 | US$ 230.52 |

Table 1. Cost comparison: ic-ELISA developed for aflatoxin analysis in egg and commercial kit in different matrixes.

[1]Cost for microplate with 96 wells

[2] Value considered insignificant to be below US$ 0.01

Dollar quotation: US$1.00 = R$ 3.80 (april / 2019)

| **RECOVERY[1]** | | | **PRECISION** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Repeatability[2]** | | **Intermediate Precision[3]** | |
| **$AFB_1$ spiked ($\mu g\ kg^{-1}$)** | **Mean* ± SD ($\mu g\ kg^{-1}$)** | **Mean Recovery (%)** | **RSD (%)** | **Mean (%)** | **RSD (%)** | **Mean (%)** |
| 1.0 | 0.9 ± 0.12 | 96 | 9.5 | 12 | 14.7 | 15 |
| 2.0 | 1.9 ± 0.03 | 101 | 13.0 | | 14.8 | |
| 5.0 | 4.9 ± 0.25 | 99 | 13.5 | | 14.8 | |

Table 2. Recovery and precision of aflatoxin $B_1$ in artificially contaminated egg by ic-ELISA.

[1] Data expressed as average ± SD of three determinations analyzed in seven replicates

[2] Data expressed as the relative standard deviation (RSD) of one determination analyzed in seven replicates for each concentration

[3] Data expressed as the relative standard deviation (RSD) of three determinations analyzed in seven replicates for each concentration in different days

| Matrix | Hybridome/year | Aflatoxin, our data* | | | Aflatoxin data in publications** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Method | (µg kg⁻¹) | | Method | (µg kg⁻¹) | | Reference |
| | | | LOD | LOQ | | LOD | LOQ | |
| Egg | AF4/2017 | icElisa | 0.35 | 0.71 | Commercial ELISA kit | 1.00 | N.M. | DEEB; AMAN; EL-HAWARY, 2017 |
| | AF4/2019 | icElisa | 0.02 | 0.04 | Commercial ELISA kit | 0.50 | 1.00 | TULAYAKUL et al., 2018 |
| Feed | AF2/2012 Broiler | icElisa | 1.25 | 1.43 | Commercial ELISA kit | 1.10 | 2.50 | PEREIRA; CUNHA; FERNANDES, 2020 |
| | AF2/2012 Laying hen | icElisa | 0.04 | 0.05 | HPLC | 2.00 | N.M. | MUÑOZ-SOLANO; GONZÁLEZ-PEÑAS, 2020 |
| Cereal | - /2020 | LC MS/MS multmycotoxins | 0.30 | 0.70 | LC MS/MS multmycotoxins | 0.10 | 0.70 | SOLFRIZZO et al., 2018 |

Table 3. Developed ic-ELISA for aflatoxin detection in egg and feed, in comparison with other methods and reports.

*LOD: 0.017 ng/g and LOQ: 0.027 ng/g in current $AFB_1$ analysis, corresponding to pg level of sensitivity. *ic-ELISA was developed using mAb produced by hybridoma AF4 with high specificity and reactivity to $AFB_1$ and Aflatoxicol (*in vivo* interconverting $AFB_1$ metabolite), but low cross-reactivity with other analogs.

**Such publications evaluated Aflatoxin in individual matrix, i.e. aflatoxin was monitored in egg, feed or corn, but did not consider the whole egg chain: from supplies to produced eggs.

N.M. (Not mentioned).

TLC (Thin Layer Chromatography)

HPLC-FLD (High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector)

LC-MS/MS (Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry)

| Farm | | WEIGHT (g) | | | SHELL | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Egg | Yolk | White | Percentage (%) | Thickness (mm) |
| A | Mean | 56.24ᵇ ± 3.33 | 16.72ᵇ ± 1.41 | 33.68ᵇ ± 2.35 | 10.4ᵃ ± 0.86 | 0.370ᵃ ± 0.04 |
| | Range | 45.32 - 64.99 | 13.61 - 21.24 | 26.13 - 43.85 | 7.9 - 13.8 | 0.301 - 0.491 |
| B | Mean | 58.85ᵃ ± 3.40 | 17.85ᵃ ± 1.42 | 34.98ᵃ ± 2.93 | 10.2ᵃ ± 0.71 | 0.373ᵃ ± 0.04 |
| | Range | 47.04 - 65.30 | 14.19 - 20.32 | 31.44 - 40.57 | 8.2 - 12.6 | 0.327 - 0.492 |

Table 4. Physical parameters concerning quality in egg sampled in Northern Parana state.

Means followed by different letters in the same column differed by Wilcoxon test ($p < 0.05$)

| Farm | Number of Samples | Positive sample (%) | Mean (µg kg⁻¹) | Range (µg kg⁻¹) |
|---|---|---|---|---|
| A | 200 | 8 | 0.84ᵃ ± 0.11 | 0.70 – 1.12 |
| B | 100 | 15 | 0.94ᵃ ± 0.22 | 0.70 – 1.29 |

Table 5. Aflatoxin $B_1$ contamination in egg by ic-ELISA, Northern Parana state.

Means followed by different letters in the same column differed by the Wilcoxon test ($p < 0.05$)

| Farm | Aflatoxin | WEIGHT (g) | | | SHELL | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Egg | Yolk | White | Percentage (%) | Thickness (mm) |
| A | Detected (n = 16) | 56.24ª ± 3.33 | 16.12ª ± 1.09 | 33.43ª ± 1.72 | 10.61ª ± 0.72 | 0.39ª ± 0.05 |
| | Non-Detected (n = 184) | 56.32ª ± 3.41 | 16.78ª ± 1.42 | 33.70ª ± 2.40 | 10.38ª ± 0.87 | 0.37ª ± 0,04 |
| B | Detected (n = 15) | 57.52ª ± 4.37 | 17.56ª ± 1.51 | 33.89ª ± 3.42 | 10.54ª ± 0.86 | 0.39ª ± 0.06 |
| | Non-Detected (n = 85) | 59.06ª ± 3.18 | 17.88ª ± 1.41 | 35.17ª ± 2.83 | 10.18ª ± 0.68 | 0.37ª ± 0.04 |

Table 6. Weights, shell percentage & thickness, and $AFB_1$ detected / non-detected egg samples.

Samples >LOD (0.35 $\mu$g $kg^{-1}$) were considered positive

Means followed by different letters in the same column differed by Wilcoxon test ($p < 0.05$)

| SAMPLING (2016) | LAYING HEN | | | EGG | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Feed Corn crop** | T°CShed | Hen Age, weeks | Weight (g) | | | Shell | | Aflatoxin (µg kg⁻¹) Mean | |
| | | | | Total | Yolk | White | % | Thickness (mm) | Sampling | Corn crop** |
| **Farm A** | | 31 | 30 | 54.028 | 15.071 | 33,687 | 9.8 | 0.4095 | 0.77 | |
| | | 28 | 31 | 53.045 | 15.143 | 32.291 | 10.6 | 0.4315 | 0.86 | |
| | | 28 | 31 | 53.092 | 14.380 | 33.101 | 10.6 | 0.4276 | 0.81 | |
| | | 28 | 31 | 52.343 | 15.032 | 31.789 | 10.6 | 0.4423 | 0.85 | |
| Abril | 2015 | 29 | 32 | 60.158 | 15.662 | 38.337 | 10.2 | 0.3720 | 0.73 | 0.84ª |
| | | 23 | 33 | 54.944 | 16.456 | 32.611 | 10.7 | 0.3786 | 0.80 | |
| | | 23 | 33 | 56.491 | 15.626 | 33.948 | 12.2 | 0.3598 | 1.01 | |
| | | 23 | 33 | 55.784 | 17.026 | 31.727 | 12.6 | 0.3711 | 0.72 | |
| May | 2015 | 19 | 34 | 57.474 | 17.402 | 34.017 | 10.5 | 0.3565 | 0.88 | |
| | | 21 | 37 | 53.852 | 16.381 | 31.876 | 10.4 | 0.3400 | 0.78 | |
| June | 2015 | 22 | 39 | 54.604 | 16.417 | 32.482 | 10.4 | 0.3231 | 1.12 | |
| | | 22 | 39 | 54.674 | 16.122 | 32.820 | 10.5 | 0.3164 | 0.93 | |
| July | 2016 | 26 | 42 | 55.720 | 17.011 | 32.844 | 10.5 | 0.3738 | 0.84 | |
| | | 26 | 42 | 60.313 | 17.665 | 36.340 | 10.5 | 0.3584 | 0.78 | 0.83ª |
| August | 2016 | 29 | 47 | 56.257 | 18.221 | 32.266 | 10.3 | 0.3213 | 0.86 | |
| **Farm B** | | 31 | 33 | 53.609 | 14.967 | 33.184 | 10.2 | 0.4923 | 1.26 | |
| | | 31 | 34 | 57.442 | 17.079 | 34.665 | 9.9 | 0.4849 | 1.21 | |
| | | 31 | 34 | 59.345 | 16.625 | 36.736 | 10.1 | 0.4850 | 1.29 | |
| April | | 31 | 34 | 57.983 | 16.361 | 35.806 | 10.0 | 0.4852 | 1.23 | |
| | 2015 | 30 | 36 | 62.284 | 20.302 | 35.847 | 9.8 | 0.3547 | 0.71 | |
| | | 30 | 36 | 55.019 | 16.197 | 33.100 | 10.4 | 0.3599 | 1.03 | 1.00ª |
| | | 23 | 37 | 54.724 | 16.621 | 31.511 | 12.0 | 0.3664 | 0.98 | |
| | | 23 | 37 | 54.595 | 16.587 | 31.637 | 11.7 | 0.3735 | 1.07 | |
| May | 2015 | 21 | 41 | 55.899 | 16.742 | 33.464 | 10.2 | 0.3642 | 0.76 | |
| June | 2015 | 21 | 42 | 47.037 | 17.408 | 23.705 | 12.6 | 0.3356 | 0.77 | |
| | | 22 | 44 | 56.756 | 17.873 | 33.344 | 9.8 | 0.3431 | 0.75 | |
| | | 26 | 46 | 61.040 | 19.015 | 35.390 | 10.4 | 0.3673 | 0.72 | |
| July | 2016 | 23 | 47 | 62.904 | 19.608 | 36.919 | 10.1 | 0.3401 | 0.86 | |
| | | 24 | 49 | 60.154 | 18.987 | 34.773 | 10.6 | 0.3610 | 0.74 | 0.76ª |
| | | 24 | 49 | 63.966 | 19.063 | 38.289 | 10.3 | 0.3582 | 0.70 | |

Table 7. Aflatoxin positive samples*: quality parameters versus contamination in egg.

* Samples >LOD (0.35 $\mu$g $kg^{-1}$) were considered positive; for calculation of means, those >LOQ (0.71 $\mu$g $kg^{-1}$) were considered

** AFLA mean in egg from laying hen eating feed prepared with corn harvested in each corresponding crop year

Means followed by different letters in the same column differed by the Wilcoxon test ($p < 0.05$)

# CAPÍTULO 5
## ASSESSMENT OF SAFETY, FUNCTIONAL AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF LACTICASEIBACILLI AND LIMOSILACTOBACILLI BEFORE AND AFTER *IN VITRO* GASTROINTESTINAL TRANSIT

*Data de aceite: 01/08/2021*

*Data de submissão: 06/05/2021*

**André Fioravante Guerra**
Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca - CEFET/RJ, Departamento de Engenharia de Alimentos, Valença, RJ
ORCID 0000-0002-7226-7236

**Layse Ferreira de Brito**
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ
http://lattes.cnpq.br/8531939515714632

**Karina Coelho Moreira da Silva**
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ
http://lattes.cnpq.br/8349677013111294

**José Francisco Pereira Martins**
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ
http://lattes.cnpq.br/2868078326187163

**Rosa Helena Luchese**
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ
ORCID 0000-0002-2059-1368

**ABSTRACT:** Probiotics have been demonstrated to bring about several beneficial health effects on the host. The aim of this research was to evaluate some safety, functional and technological properties of candidate probiotic strains (*Lacticaseibacillus* e *Limosilactobacillus*) isolated from faeces of newborns from 7 to 21 days of age. The tests were performed before and after *in vitro* simulation of human gastrointestinal (GI) transit. A representative strain from each RAPD-PCR cluster (n = 9), were selected and included in the protocol. In most cases, the susceptibility level to the tested antibiotics was preserved after GI transit; however, changes in susceptibility to ciprofloxacin and penicillin have been observed.Three strains of *L. paracasei*, one of *L. rhamnosus* and one of *L. fermentum* changed the susceptibility level for ciprofloxacin from susceptible to intermediate This event was also observed in one *L. fermentum* regarding to penicillin. The stress due to GI transit led to partially losses of the ability of lacticaseibacilli and limosilactobacilli to reduce *Escherichia coli* biofilm formation on the plastic surface. Mutualisms have been observed between lacticaseibacilli and streptococci, which when associated acidified the milk reaching a pH below 5.2 faster, indicating a reduction in the adaptation phase and / or acceleration of microbial growth. In conclusion, the present study demonstrated that probiotic testing protocols must include the behavior of the candidate strain after GI transit. In addition, mutualistic interaction between probiotic strains and streptococci may indicate a promising alternative for use in dairy products.

**KEYWORDS:** Probiotic; Lactobacilli; Health; Benefits.

## AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES DE SEGURANÇA, FUNCIONAIS E TECNOLÓGICAS DE LACTICASEIBACILOS E LIMOSILACTOBACILOS ANTES E DEPOIS DO TRÂNSITO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

**RESUMO:** Microrganismos probióticos tem sido correlacionado com vários efeitos benéficos à saúde do hospedeiro. O objetivo deste estudo foi avaliar algumas propriedades de segurança, funcionais e tecnológicas de cepas probióticas candidatas (*Lacticaseibacillus* e *Limosilactobacillus)* isoladas de fezes de recém-nascidos de 7 a 21 dias de idade. Os testes foram realizados antes e após simulação *in vitro,* do trânsito gastrointestinal (GI) humano. Uma cepa representativa de cada *cluster* (n = 9), agrupados pelo método RAPD-PCR, foi selecionada e incluída no protocolo. Na maioria dos casos, o nível de suscetibilidade aos antibióticos testados foi preservado após o trânsito GI; no entanto, foram observadas alterações na susceptibilidade a ciprofloxacina e penicilina. Três cepas de *L. paracasei*, uma de *L. rhamnosus* e uma de *L. fermentum* alteraram o nível de susceptibilidade para ciprofloxacina de suscetível para intermediário. Este evento também foi observado em uma cepa de *L. fermentum* para penicilina. O estresse devido ao trânsito GI levou à perda parcial da capacidade das cepas reduzir a formação de biofilme de *Escherichia coli* em superfície plástica. Interação do tipo mutualística foi observada entre as cepas de *Lacticaseibacillus* e *Streptococcus*, que quando associadas acidificaram o leite atingindo pH inferior a 5,2 mais rapidamente, indicando uma redução da fase de adaptação e/ou aceleração do crescimento microbiano. Em conclusão, o presente estudo demonstrou que protocolos para teste de probióticos devem incluir o comportamento da cepa candidata após o trânsito GI. Além disso, interação mutualística entre cepas probióticas e estreptococos pode indicar uma alternativa promissora para o uso em derivados lácteos.

**PALAVRAS - CHAVE:** Probiótico; Lactobacilos; Saúde; Benefícios.

### 1 | INTRODUÇÃO

Probiotics are live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit to the host (WHO, 2017). They can be conveyed in a series of products, including foods, drugs, and dietary supplements. Lactic acid bacteria, including species of lacticaseibacilli, which have been used for preservation of fermented food for thousands of years, can serve a dual function by acting as agents of food fermentation and, in addition, potentially imparting health benefits. Starter cultures must be carefully selected, since their functional and technological attributes are generally strain-dependent and varies considerably among strains within the same species. The yield of bioactive synthesis and the concentration of such compounds in dairy products is another critical strain-dependent factor. (LINARES et al., 2017).

Main beneficial criteria sought in probiotic strains include resistance to gastrointestinal conditions, antimicrobial activity, adherence on intestinal mucosa, absence of pathogenicity and infectivity history, metabolic activity on bile salts, absence of hemolytic activity and of the genes that transmit resistance, reduction of biofilm formation by potential pathogenic microorganisms, lysozyme resistance, and not cause off-flavor in the food (SHEWALE et

al., 2014; THAKUR et al., 2016).

Probiotic containing products for human consumption are available in foods and drug supplements. Production and maintenance of probiotic food products are considerably more difficult than the drug ones (NM e AM, 2017). A series of complex interactions and interventions in food matrices may adversely or beneficially affect the viability of probiotics. However, it is apparent that, in some cases, the beneficial effect from metabolites of the added bacteria may delivery metabiotic or postbiotics effect. Various metabolites produced by probiotic organisms include organic acids, glycoproteins, peptides, exopolysaccharides, polyphosphates, short-chain fatty acids such as acetate, propionate, and butyrate constitute the major metabiotics shown to participate in immune regulation along with maintenance of normal physiology of the gut (SHARMA & SHUKLA, 2020).

The aim of this research was to evaluate safety, functional, and technological properties of lacticaseibacilli and limosilactobacilli from human origin before and after GI transit.

## 2 I MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Lactobacilli Isolation

Lacticaseibacilli and limosilactobacilli strains were isolated from faeces of 7- to 21-day-old babies, assisted by the Human Milk Bank (HMB) and by the Neonatal Intensive Care Unit (NICU) from Fernandes Figueira Institute of FIOCRUZ, as well as infants attended by the HMB from Rocha Faria State Hospital, both located in Rio de Janeiro (Brazil). Samples (about 1g) were collected in duplicate on pre-weighed sterile plastic tubes and immediately placed in plastic bags. A hand pump was used for removed atmospheric air and the transport to the laboratory was done in box with ice. Decimal serial dilutions were performed in anaerobic buffer Wilkins-Chalgren broth (Oxoid, Basingstoke, United Kingdom) after boiling to remove dissolved oxygen. Aliquots (100 $\mu$l) of each dilutions were plated on Lamvab agar for isolation (Hartemink et al., 1997), followed by incubation at 36 °C for 48 hours on low oxygen level. Presumptive colonies were kept frozen (-18 °C) in MRS broth added of sterile (15 %) glycerol.

### 2.2 Genotypic Identification by Sequencing of the 16S rDNA Region

DNA of axenic cultures was extracted with 50 $\mu$l of lysis solution (0.25% SDS and 0.05 mol/L NaOH) from colonies growth on MRS agar and the cell lysis was carried out by treating the solution at 95°C for 15 min in the thermocycler (Bio-Rad, USA), followed by the centrifugation at 10.500*xg* for 10 minutes (5427 R Centrifuge, Eppendorf). Aliquot (10 µL) of supernatants were diluted in ultrapure water (90 $\mu$l) for molecular biology (Sigma-Aldrich, S. Louis, Mo, US) and used as a template for polymerase chain reaction (PCR).

Reaction mixtures for PCR contained dNTPs (Invitrogen), 200 µmol/l;

“AGAGTTTGATCCTGGTCAG” and “AAGGAGGTGATCCAGCCGCA” primers (MWG Biotech), 1 µmol/l; Taq Polymerase (Amersham), 1 U; DNA template, 2 µl of the diluted lysate; ultrapure water for molecular biology (Sigma-Aldrich, S. Louis, Mo, US) for a final volume of 25 µl.

The reaction was initiated with hot start and after a common one cycle initial denaturation step (94 ºC/300s.), the amplification program was 35 cycles at: 94 °C for 30 s; 56 °C for 30 s; 72 °C for 60 s and a single final extension step 72 °C for 300 s.

Subsequently, 10µl of PCR product was mixed with 10 µl of bromophenol blue buffer and applied in agarose gel using 1.2% TAE (Tris-Acetate EDTA) as running buffer. The run started at 80 V for 5 minutes, followed by 100 V for 40 minutes. The gel was then immersed in ethidium bromide solution (10 mg/ml) for 1 hour and photographed in a photo documentator (LAS ImageQuanti 500, GE Healthcare Life Science, UK). After checking the amplification, the PCR product was dried in the thermal cycler at 50 °C for 10 minutes and sequenced as described by ANDRIGHETTO et al. (2001). The sequences of the 16S rDNA region were search with BLAST against the nucleotide database in NCBI.

## 2.3 *In vitro* GI Transit

Cell concentration was adjusted in phosphate buffer pH 7.2 (PB) to contain *ca* 8 log cfu/mL. Each culture was divided into two samples for functional, safety, and technological assessment before and after GI transit, that was performed as reported by FAVARIN et al. (2015) with some modifications. Gastrointestinal base juice was formulated as follows: calcium chloride (0.11 g/l); potassium chloride (1.12 g/l), sodium chloride (2.0 g/l), and potassium dihydrogen phosphate (0.4 g/l). This solution was sterilized in an autoclave at 121 °C for 15 minutes.

Artificial gastric juice was freshly prepared by adding 3.5 g/l of swine mucin, and 0.26 g/l of swine pepsin (Sigma-Aldrich, S. Louis, Mo, USA) in base juice. The pH was adjusted to 2.0 with 1M HCl and the tube was incubated at 36 °C for 45 minutes with gentle shaking in an anaerobic workstation (AW200SG, Electrotek, England), with artificial atmosphere (80 % $N_2$, 10 % $CO_2$, and 10 % $H_2$).

Subsequently, artificial intestinal juice was obtained by adding 3.0 g/l of filter (0.22 *µ*m) sterilized bile salt (Ox bile, Merck, Darmstadt, Germany), 1.95 g/l of pancreatin, and 0.1 g/l of egg white lysozyme (Sigma-Aldrich, S. Louis, Mo, USA) in base juice. The pH was neutralized with 1M sodium bicarbonate solution and the tube was incubated at 36 °C for 180 minutes at the same conditions.

## 2.4 Antibiotic susceptibility

Antibiotic susceptibility was performed by agar disk diffusion (ADD) as described by BAUER et al. (1966) using MRS agar (HiMedia, Mumbai, India), both before and after GI transit. Inoculum was adjusted with *ca* 6 log cfu/ml and spread on agar surface. Paper disks (CECON, São Paulo) impregnated at known concentration of antimicrobial agent

were deposited on the dried agar surface. AMC - amoxicillin + clavulanic acid (30 mcg); NAL - nalidixic acid (30 mcg); VAN - vancomycin (30 mcg); KAN - kanamycin (30 mcg); CIP – ciprofloxacin (5 mcg); AMP - ampicillin (10 mcg); DOX - doxycycline (30 mcg); GEN - gentamicin (10 mcg); ERI - eritromicin (15 mcg), CLO - chloramphenicol (30 mcg); PEN – penicillin G (10 U.I.); TET - tetracycline (30 mcg). Plates were incubated at 36 °C for 48 hours and the diameter of growth inhibition zones surrounded the discs were measured with a caliper (including disc).

### 2.5 Biofilm inhibition

Lacticaseibacilli and limosilactobacilli were challenged to avoid or reduce *Escherichia coli* ATCC 25922 biofilm formation by competition mechanism on polystyrene microtiter plate, as described by WOO e AHN (2013). Microorganisms were co-cultured at same cell concentration (*ca* 7 log cfu/ml) for 24 hours at 36 °C. Each well was rinsed twice with phosphate buffer pH 7.2 to remove non-adherent cells. The adhered cells were harvest by a sterile swab and counted by drop technique on Eosin Methylene Blue agar (HiMedia, Mumbai, India). Monospecies cultures of the potential food-borne pathogenic microorganisms were used as control.

### 2.6 Hemolysis on blood agar

Lacticaseibacilli and limosilactobacilli cultures were tested for hemolytic activity by streaking on MRS agar (HiMedia, Mumbai, India) added with 5 % of defibrinated sheep blood (Eurofarma, Rio de Janeiro, Brazil) and by stabbing in the agar to encourage any anaerobic version of the enzymes to digest blood cells. After incubation at 36 °C for 48 hours, the medium was inspected for α-hemolysis (gray-green halo) and β-hemolysis (transparent halo).

### 2.7 Associative growth of lacticaseibacilli and streptococci

Raw cow's milk (Legnaro, Veneto, Italia) was sterilized by autoclavation at 110 °C/10 minutes in a glass bottle (500 ml) and cooling in water/ice bath. Each bottle (total of 8 units) was inoculated at a final inoculum concentration with *ca* 6 log cfu/ml, as follows: G1 – *L. rhamnosus* DTA 76; G2 – *L. paracasei* DTA 83; G3 – *S. thermophilus* TH 895; G4 – *S. thermophilus* TH 1435; G5 – *L. rhamnosus* DTA 76 and *S. thermophilus* TH 895; G6 – *L. rhamnosus* DTA 76 and *S. thermophilus* TH 1435; G7 – *L. paracasei* DTA 83 and *S. thermophilus* TH 895; G8 – *L. paracasei* DTA 83 and *S. thermophilus* TH 1435. Aliquots (10 ml) of each bottle were distributed into 10 sterile tubes followed by incubation at 37 °C up to 9 hours in a stirred water bath. At 1-hour intervals, one tube by group was withdrawn for pH measurement.

## 3 I RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1 Clustering by RAPD-PCR

The strains were clustered into 9 branches with more than 90 % of genetic similarity by RAPD-PCR as described by GUERRA et al. (2018) (Table 1). One representative strain of each cluster was chosen and considered in the protocol.

| Code (DTA) | Identification (*) |
|---|---|
| 72; 73; 74; 75; 76; 77; 78; 79 | *Lacticaseibacillus rhamnosus* |
| 80; 81; 82; 83; 84; 85; 86; 87; 88; 89; 90; 91; 92; 93; 94; 95; 96; 97; 98; 99; 100; 101; 102; 103 | *Lacticaseibacillus paracasei* |
| 104; 105; 106 | *Limosilactobacillus fermentum* |

Table 1 – Clustering (RAPD-PCR) of probiotic candidates isolated from infant stools.

(*) Current nomenclature for important probiotic *Lactobacillus* species (International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics - ISAPP).

### 3.2 Antibiotic susceptibility

All strains were susceptible to AMC, AMP, CIP, CLO, DOX, ERI, GEN, PEN, TET. Some strains have changed the level from susceptible to intermediate after GI transit. This event was observed with CIP (DTA 73, 83, 92, 97, 106) and PEN (DTA 106). As expected, all strain were resistant to NAL, GEN, KAN, VAN (Figure 1). The presence of genes that confer microbial resistance to antibiotics is an undesirable property for candidate probiotic once it can naturally transfer them to pathogenic microorganisms (SOMMER et al., 2017). Although antibiotic resistance genes seem to be correlated mainly with phenotypic resistance, some molecular resistance was also reported in the literature (DEC et al., 2017).

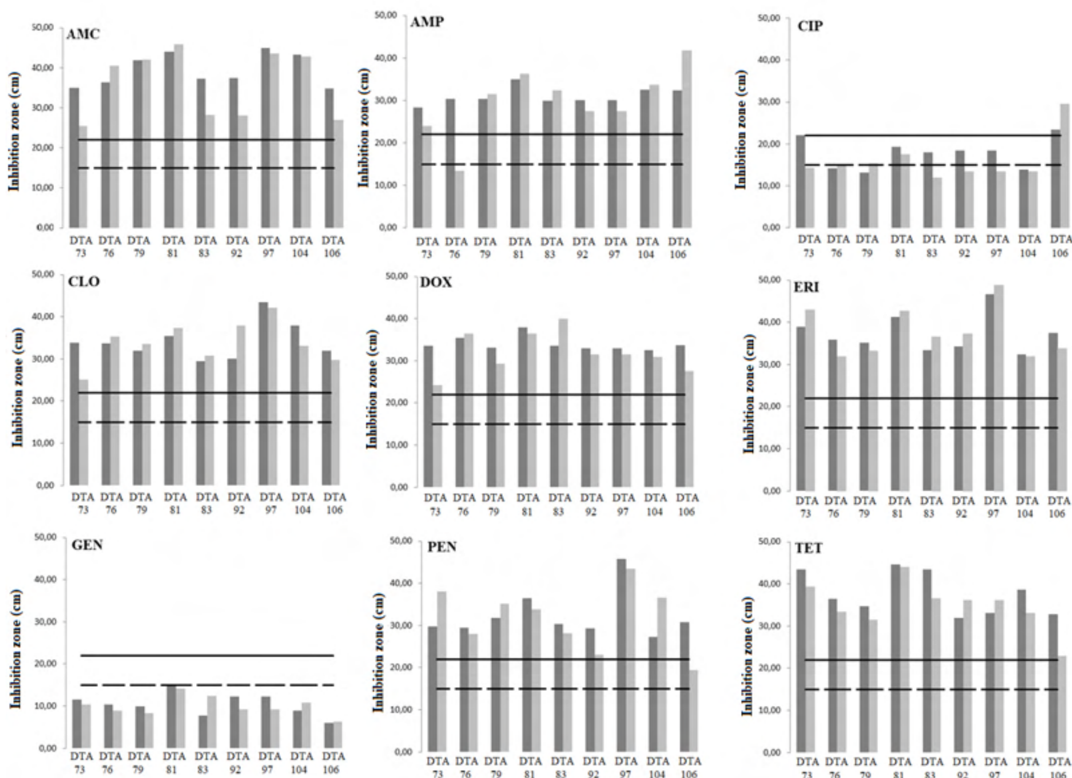



Figure 1 – Strain antibiotic susceptibility level before (■) and after (■) in vitro GI transit: AMC - amoxicillin + clavulanic acid (30 mcg); NAL - nalidixic acid (30 mcg); VAN - vancomycin (30 mcg); KAN - kanamycin (30 mcg); CIP – ciprofloxacin (5 mcg); AMP - ampicillin (10 mcg); DOX - doxycycline (30 mcg); GEN - gentamicin (10 mcg); ERI - eritromicin (15 mcg), CLO - chloramphenicol (30 mcg); PEN – penicillin G (10 U.I.); TET - tetracycline (30 mcg). Susceptible ( ), Intermediate ( ), Resistant ( ). The level of susceptibility was scored according to the intervals proposed by CHARTERIS et al. (1998) for lactobacilli.

## 3.3 Biofilm inhibition

Antimicrobial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 biofilm formation by competition mechanism was observed for all clusters. DTA 76, DTA 92, and DTA 106 partially lost the capacity to inhibit the biofilm after GI transit. Conversely, DTA 79 showed a greater potential to reduce the biofilm after GI (Figure 2).

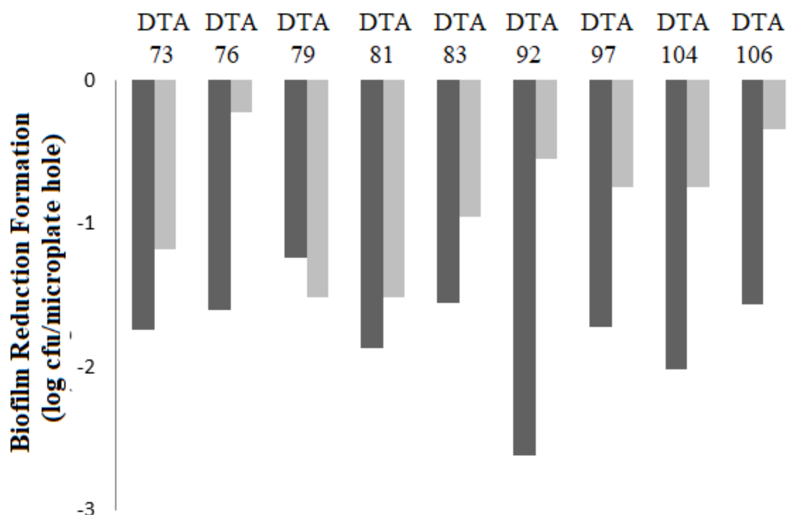



Figure 2 - Reduction of *E. coli* ATCC 25922 biofilm formation by lactobacilli before (■) and after (■) GI transit by competition mechanisms. Biofilm cells were estimated by subtracting the biofilm cell counts in co-cultures from the monoculture, after incubation at 36 °C for 24 h.

Probiotics have a key role in the maintenance of immunologic equilibrium in the gastrointestinal tract through the direct interaction with immune cells. It is a consensus in the scientific community that probiotics play a crucial role against acute infectious diarrhea, antibiotic-associated diarrhea, clostridia difficile–associated diarrhea, hepatic encephalopathy, ulcerative colitis, irritable bowel syndrome, functional gastrointestinal disorders, and necrotizing enterocolitis.

Currently, the prescription of probiotics may be associated with some concerns as adverse effects like opportunistic infections, autoimmune, and allergic associated. These, among other events, may limit the use of probiotics in certain normal/or immunosuppressed individuals. Alternatively, the administration of metabiotics may attenuate the adverse effects, as well as the concerns of maintaining the viability of probiotics. Thus, metabiotics can be considered as a potent prophylactic/or therapeutic alternative (SHARMA & SHUKLA, 2016).

### 3.4 Hemolysis on Blood Agar

All strains showed ɣ-hemolysis (absent of β-hemolytic activity when grown on MRS agar containing 5% (w/v) sheep blood) before and after GI transit. OWUSU-KWARTENG et al. (2015) reported that hemolysis is an important test to determinate technological properties of strain for application in foods.

### 3.5 Milk Acidification

DTA 76, DTA 83 and TH 895 axenically cultured, failed in the acidification test for technological use of the strain and they were unable to acidify the milk to pH below 5.2. On

the contrary, TH 1435 acidified very well the milk. DTA 83 acidified the milk to this level only when co-cultured with TH 1435. Instead, DTA 76 showed potential of acidifying the milk in a co-culture either with TH 895 or TH 1435 (Figure 3).

Association between lactic acid culture are a suitable strategy for improve technological and sensorial characteristics in dairy products. Mutualisms was observed with DTA 76 and TH 985 strains (Figure 3B). Otherwise, TH 1435 is not an adequate strain to be used in co-culture system with other lactic acid bacteria once it showed a non-associative growth. Furthermore, there are not a consensus in the scientific community to recognize streptococci as a probiotic. Actually, when it is used in co-culture system, the goal is to improve the probiotic viability. These results showed that an associative growth of lacticaseibacilli and streptococci is strain-dependent,

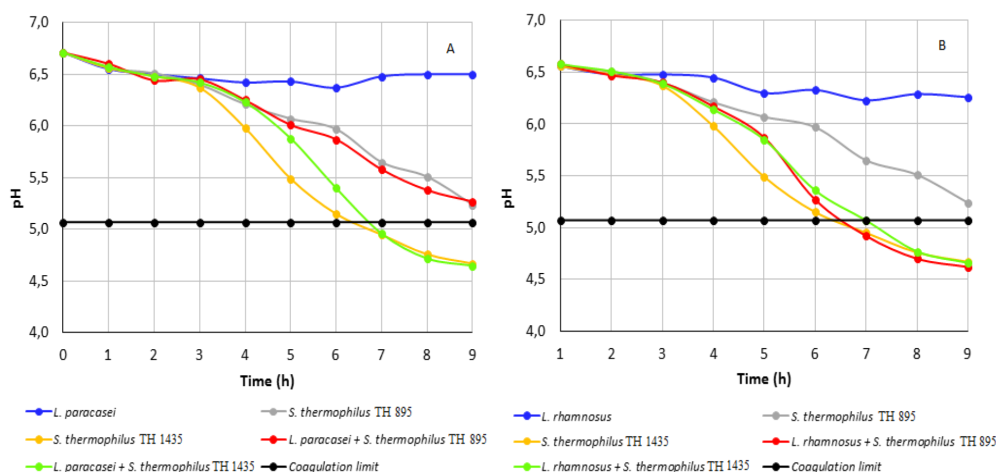



Figure 3 – Milk acidification profiles by *L. paracasei* DTA 83 (A) and *L. rhamnosus* DTA 76 (B) with *S. thermophilus* TH 895 or TH 1435 in an axenic or co-culture system.

*L. paracasei* are commonly used in probiotic dairy products as yogurt, cheese, fermented milk, and ice cream (STEFANOVIC et al., 2017). In a more advanced approach, it shows that when probiotics are intended for gut benefits, they must be resistant to GI transit. In this sense, dairy products can be adequate matrices for delivery probiotics, since they can confer protection to the stress factors of GI (LEE et al., 2015; VILLALVA et al., 2017).

## 4 I CONCLUSIONS

The present study supported that protocol for testing probiotics should include the behavior of the candidate after GI transit. In addition, associative growth of lacticaseibacilli and streptococci may indicate a promisor alternative for use of the strains in dairy products.

## REFERENCES


ANDRIGHETTO, C.; ZAMPESE, L.; LOMBARDI, A. RAPD-PCR characterization of lactobacilli isolated from artisanal meat plants and traditional fermented sausages of Veneto region (Italy). **Letters in Applied Microbiology,** v. 33, n. 1, p. 26-30, 2001. ISSN 1472-765X. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1046/j.1472-765X.2001.00939.x >.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am J Clin Pathol,** v. 45, n. 4, p. 493-6, Apr 1966. ISSN 0002-9173 (Print) 0002-9173.

Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Lactobacillus species. **J Food Prot**, v. 61, p. 1636–1643, 1998.

DEC, M. et al. Assessment of antibiotic susceptibility in Lactobacillus isolates from chickens. **Gut Pathogens,** v. 9, n. 1, p. 54, September 19 2017. ISSN 1757-4749. Disponível em: < https://doi.org/10.1186/s13099-017-0203-z >.

FAVARIN, L.; LAUREANO-MELO, R.; LUCHESE, R. H. Survival of free and microencapsulated Bifidobacterium: effect of honey addition. **Journal of Microencapsulation,** v. 32, n. 4, p. 329-335, 2015/05/19 2015. ISSN 0265-2048. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.3109/02652048.2015.1017620 >.

HARTEMINK, R.; DOMENECH, V. R.; ROMBOUTS, F. M. **LAMVAB - A new selective medium for isolation of lactobacilli from faeces**, 1997.

LEE, B. et al. Attenuation of Colitis by Lactobacillus casei BL23 Is Dependent on the Dairy Delivery Matrix. **Applied and Environmental Microbiology**, 1752 N St., N.W., Washington, DC**,** v. 81, n. 18, p. 6425-6435, 08/1904/23/received 07/02/accepted 2015. ISSN 0099-22401098-5336. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542224/ >.

LINARES, D. M. et al. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. **Frontiers in Microbiology,** v. 8, p. 846, 05/18 12/14/received 04/25/accepted 2017. ISSN 1664-302X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5435742/ >.

NM, M.; AM, M. **Probiotic Supplements and Food Products: A Comparative Approach**, 2017.

OWUSU-KWARTENG, J. et al. Technological properties and probiotic potential of Lactobacillus fermentum strains isolated from West African fermented millet dough. **BMC Microbiology**, London**,** v. 15, p. 261, 11/11 07/15/received11/06/accepted 2015. ISSN 1471-2180. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4642623/ >.

Sharma, M., & Shukla, G. Metabiotics: One step ahead of probiotics; an insight into mechanisms involved in anticancerous effect in colorectal cancer. Frontiers in Microbiology, 7(DEC), 1–15, 2016. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01940

Sharma, M., & Shukla, G. Administration of Metabiotics Extracted From Probiotic Lactobacillus rhamnosus MD 14 Inhibit Experimental Colorectal Carcinogenesis by Targeting Wnt/β-Catenin Pathway. Frontiers in Oncology, 10(June), 1–14, 2020. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00746

SHEWALE, R. N. et al. **Selection criteria for probiotics: A review**, 2014. 17-22.

SOMMER, M. O. A. et al. Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm? **Nat Rev Microbiol,** v. 15, n. 11, p. 689-696, 2017. ISSN 1740-1526.

STEFANOVIC, E.; FITZGERALD, G.; MCAULIFFE, O. Advances in the genomics and metabolomics of dairy lactobacilli: A review. **Food Microbiol,** v. 61, p. 33-49, 2017. ISSN 0740-0020.

THAKUR, N.; ROKANA, N.; PANWAR, H. **Probiotics: Selection criteria, safety and role in health and disease**, p. 259-270, 2016..

VILLALVA, F. J. et al. Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food. **Food Science and Technology,** v. 37, p. 456-461, 2017. ISSN 0101-2061. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612017000300456&nrm=iso >.

WHO. Nutrition health topics - Exclusive breastfeeding. **World Health Organization**, 2017. Disponível em: < http://www.who.int/nutrition/topics/exclusive_breastfeeding/en/ >. Acesso em: 03/11/2017.

WILKINS, T.; SEQUOIA, J. Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. **Am Fam Physician,** v. 96, n. 3, p. 170-178, 2017. ISSN 0002-838x.

WOO, J.; AHN, J. Probiotic-mediated competition, exclusion and displacement in biofilm formation by food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology,** v. 56, n. 4, p. 307-313, 2013. ISSN 1472-765X. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/lam.12051 >.

# CAPÍTULO 6

# ASPETOS NUTRICIONAIS E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE PAPOILA E DE QUINOA

*Data de aceite: 01/08/2021*

*Data de submissão: 16/04/2021*

**Ana Cristina Mendes Ferreira da Vinha**
FP-ENAS ((Unidade de Investigação UFP em Energia, Ambiente e Saúde), CEBIMED (Centro de Estudos em Biomedicina), Universidade Fernando Pessoa); REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto
Porto – Portugal
https://orcid.org/0000-0002-6116-9593

**Carla Alexandra Lopes Andrade de Sousa e Silva**
FP-ENAS ((Unidade de Investigação UFP em Energia, Ambiente e Saúde), CEBIMED (Centro de Estudos em Biomedicina), Universidade Fernando Pessoa)
Porto – Portugal
https://orcid.org/0000-0001-6467-4766

**Carla Manuela Soares de Matos**
FP-ENAS ((Unidade de Investigação UFP em Energia, Ambiente e Saúde), CEBIMED (Centro de Estudos em Biomedicina), Universidade Fernando Pessoa); Unidade de Saúde Familiar de Ramalde, ACES Porto Ocidental
Porto – Portugal
https://orcid.org/0000-0003-0617-3538

**Carla Maria Sanfins Guimarães Moutinho**
FP-ENAS ((Unidade de Investigação UFP em Energia, Ambiente e Saúde), CEBIMED (Centro de Estudos em Biomedicina), Universidade Fernando Pessoa)
Porto – Portugal
https://orcid.org/0000-0003-1310-4696

**RESUMO:** A dieta alimentar permite ao indivíduo consumir diariamente substâncias nutritivas fundamentais para o seu desenvolvimento e sobrevivência. Contudo, quando a sua ingestão é nutricionalmente desequilibrada ou escassa, o metabolismo humano poderá atingir um estado de desnutrição e, consequentemente, promover o aparecimento de distúrbios metabólicos e/ou doenças crónicas. Com a consciencialização destes problemas verificou-se, nos últimos anos, uma crescente tendência para o consumo de alimentos funcionais ou substâncias nutracêuticas. Muitos destes alimentos e ingredientes são de origem vegetal, apresentando elevados teores de fibra, vitaminas, minerais, ácidos gordos polinsaturados, proteínas, compostos bioativos, entre outros. Consequentemente, uma maior atenção tem sido dada à utilização de sementes, as quais, na sua maioria, não são utilizadas pela indústria alimentar, nem pela população em geral. O aproveitamento das sementes traz maior valor económico à produção agrícola, além de contribuir para a formulação de novos produtos alimentares e diminuir o desperdício industrial. Neste artigo pretende-se efetuar uma revisão bibliográfica sobre o aporte nutricional e as propriedades biológicas de sementes de papoila e de quinoa, as quais têm tido elevada aceitação por parte do consumidor em geral, quer como ingredientes, quer como alimentos.

**PALAVRAS - CHAVE**: Sementes de papoila, sementes de quinoa, alimentos funcionais, compostos bioativos, propriedades biológicas.

# NUTRITIONAL ASPECTS AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF POPPY AND QUINOA SEEDS

**ABSTRACT:** The diet allows the individual to consume nutrients that are essential for the development and survival on a daily basis. However, when the intake is nutritionally unbalanced or scarce, human metabolism may reach to a malnutrition state and, consequently, promote the development of metabolic disorders and/or chronic diseases. With the awareness of these problems, there has been, in recent years, an increasing trend towards the consumption of functional foods or nutraceutical substances. Many of those foods and ingredients are obtained from vegetables, containing high levels of fiber, vitamins, minerals, polyunsaturated fatty acids, proteins, bioactive compounds, among others. Consequently, more attention has been given to the consumption of seeds in which, usually, are not used by the food industry or by the population in general. The use and consumption of seeds brings greater economic value to agricultural production, in addition to contributing to the formulation of new food products and reducing industrial waste. In this article we intend to carry out a bibliographic review on the nutritional support and biological properties of poppy and quinoa seeds, which have been highly accepted by the consumer, both as ingredient or as a food.
**KEYWORDS**: Poppy seeds, quinoa seeds, functional foods, bioactive compounds, biological properties.

## 1 | INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se verificado um crescente interesse por padrões alimentares baseados em plantas ou orgãos vegetais, que evitem o consumo de produtos de origem animal (e.g. carne e peixe), através do consumo de alimentos que apresentem benefícios para as funções fisiológicas do organismo humano (Medawar et al., 2019).

Nessa perspetiva, tem aumentado, cada vez mais, o interesse em desenvolver o conceito de "nutrição ideal", que visa promover o consumo de alimentos benéficos à saúde, tanto em termos de bem-estar (mental e físico) (Menrad, 2003; Santini e Novellino, 2018; Diaz et al., 2020), como pelas suas propriedades biológicas na prevenção do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neoplasias, diabetes e obesidade (Mollet e Rowland, 2002; Vieira, 2003; Ribeiro et al., 2019). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2017), todos os anos, mais de 17 milhões de pessoas são vítimas de doenças cardiovasculares (DCV), a maior causa de morte a nível mundial. Segundo a mesma organização, os principais fatores de risco comportamentais para uma taxa de mortalidade tão elevada incluem o sedentarismo, o tabagismo, o consumo de bebidas alcoólicas e as dietas não-saudáveis. Por outro lado, face ao momento atual em que vivemos e tendo em consideração a cadeia de abastecimento alimentar, um dos setores mais importantes da economia, constata-se que a COVID-19 está diretamente relacionada com o impacto negativo entre o abastecimento alimentar e o consumidor. Esta situação pandémica também promoveu o aumento de restrições alimentares, tanto pelo encerramento e restrições ao comércio, como pelas dificuldades financeiras relativas ao abastecimento de alimentos ao

consumidor (Aday e Aday, 2020).

Os alimentos funcionais ou superalimentos, comumente denominados *Food For Special Health Uses* (FOSHU) surgiram no Japão na década de 1980, com vista a prevenir problemas de saúde associados ao aumento do envelhecimento da população e ainda a reduzir as despesas de saúde (Anjo, 2004; Vieira et al., 2006; Maeda-Yamamoto, 2017). Atendendo aos benefícios destes alimentos, a taxa do seu consumo aumentou mundialmente desde o seu aparecimento até aos dias de hoje, sendo a aceitação do consumidor considerada extremamente positiva nos Estados Unidos da América, Canadá, Europa e Japão, que representam cerca de 90% do mercado mundial (da Costa, 2017; Zafar e Ping, 2020).

Segundo a *European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe* (FUFOSE), um alimento pode ser considerado como funcional se for demonstrado que o mesmo "afeta" beneficamente uma ou mais funções no organismo, de modo a melhorar a saúde e bem-estar e/ou a reduzir o risco de desenvolvimento de alguma doença, para além do seu aporte nutricional (Maeda-Yamamoto, 2017). Fazem parte da sua composição química uma ou mais substâncias, cujos benefícios já foram cientificamente reconhecidos, incluindo-se aqui fibras, vitaminas, minerais, proteínas, ácidos gordos, compostos fitoquímicos, entre outros (Martins et al., 2004; Uemura et al., 2010; da Costa, 2017; Maeda-Yamamoto, 2017).

Assim, torna-se imperativo estudar, identificar e informar as populações em geral acerca das propriedades biológicas dos alimentos funcionais. Segundo Bland et al. (2004), a nutrição funcional é uma área do conhecimento da nutrição baseada na perspetiva da medicina funcional. Assim, torna-se evidente a importância de se considerar a avaliação e o diagnóstico nutricional inerente à biologia dos sistemas e à individualidade genética e bioquímica do metabolismo humano, pois permitem identificar os caminhos moleculares que promovem a saúde ou a doença, direcionando o tratamento nutricional funcional, através da ingestão de alimentos biologicamente ativos (Souza et al., 2016; da Costa, 2017; Romero-Cortes et al., 2018).

Atualmente já estão identificados diversos alimentos considerados como superalimentos e muitos outros têm sido alvo de estudo, no que se refere à sua caracterização físico-química e propriedades biológicas na promoção da qualidade de vida, na prevenção de doenças e na manutenção da saúde de uma forma geral (Santini et al., 2017; Daliu et al., 2019; Reyes-Díaz et al., 2019). As sementes são alguns desses exemplos, dado que cada vez mais estas são utilizadas como matéria-prima, por parte da indústria alimentar, devido às suas propriedades nutricionais e características químicas, e pelo facto de serem economicamente baratas e de fácil acesso (Zeynep et al., 2015; Albuquerque et al., 2016; Ruiz et al., 2017).

Assim, face ao supracitado, o presente artigo tem como objetivo realçar os aspetos nutricionais e propriedades biológicas de duas sementes que são atualmente bastante

consumidas pela população humana, designadamente as sementes de papoila (*Papaver somniferum* L.) e as de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.).

## 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Sementes de papoila (*Papaver somniferum* L.)

As sementes de papoila derivam da planta *Papaver somniferum* L., pertencente à família das Papaveruceae, a qual se caracteriza por apresentar folhas solitárias e frutos capsulados. É uma planta com bastante impacto a nível mundial, pois é dela que é extraído o ópio, composto rico em alcaloides, como a morfina, codeína, tebaina, papaverina, noscapina e narceína, sendo por isso a sua utilização de exclusiva prescrição e vigilância médica (Duarte, 2005; Skopikova et al., 2020; Shetge et al., 2020).

A morfina é o protótipo dos analgésicos opiáceos atuando em diversos recetores do sistema nervoso central, originando facilmente dependência. A codeína integra numerosos medicamentos para o tratamento da tosse e a papaverina é utilizada como espasmolítico (Cabral e Pita, 2015; Devereaux et al., 2018).

As sementes de papoila podem ser um subproduto do cultivo desta planta para a obtenção de ópio. Morfologicamente, as sementes apresentam um diâmetro reduzido (~1 mm), têm superfície irregular e uma tonalidade compreendida entre o cinza escuro e o branco (Kostenko et al., 2018; Lainer et al., 2020).

A produção legal de ópio é permitida sob regras das Nações Unidas, sendo a Turquia, Índia, Austrália, França, Espanha, Hungria, República Checa e China os países que detêm essa autorização de produção. Segundo dados da FAO, a Turquia é o país líder de produção com 34,194 toneladas de sementes de papoila, seguido pela República Checa com 32,692 toneladas (Rahimi et al., 2011; Haber et al., 2019).

Historicamente, estas sementes já vêm mencionadas em textos médicos antigos de diversas civilizações. No Antigo Egipto existem referências à administração de sementes de papoila aos lactentes nervosos e com insónias. Na civilização Minoica, que surgiu na Idade do Bronze Grega em Creta, aproximadamente entre os séculos XXX e XV a.C, já se cultivava a planta do ópio pelas suas sementes, as quais eram usadas na elaboração de uma mistura de leite, ópio e mel para acalmar os lactentes (Duarte, 2005; Montgomery et al., 2019; Montgomery et al., 2020). Como estas sementes não contêm os alcaloides presentes no ópio, atualmente são utilizadas inteiras ou moídas, em produtos de padaria, como guarnição em preparações culinárias, no recheio de bolos, em sobremesas e na produção de óleo (Knutsen et al., 2018).

Hoje, o consumo de sementes de papoila é bastante comum em países da Europa Central e Oriental, como a Áustria, República Checa, Alemanha, Hungria, Polónia, Eslováquia e Eslovénia, sendo em alguns desses países utilizadas como ingrediente em

muitas sobremesas e pratos tradicionais (e.g. Makowiec e Mohnstollen) (Lopez et al., 2018; Knutsen et al., 2018).

### *2.1.1 Composição química*

De uma forma geral, as sementes são ricas em gorduras saudáveis, fibras, vitaminas e minerais benéficos para a saúde, funcionando como um bom complemento da alimentação diária. Contudo, são extremamente calóricas, fornecendo entre 500 e 600 calorias por 100 gramas de sementes. Numa quantidade de 100 g, as sementes de papoila fornecem ~525 calorias e são uma boa fonte de tiamina, folato e diversos minerais essenciais, como o cálcio, ferro, magnésio, manganésio, fósforo e zinco. A nível da sua composição centesimal média contêm água (~6%), proteínas (~21%), hidratos de carbono (~28%) e gordura (~42%) (USDA, 2017).

A composição em ácidos gordos dos alimentos é fundamental na avaliação do impacto na saúde da população que os consome, sendo também muito importante para determinar o tipo de aplicação mais adequada. Os alimentos ricos em ácidos gordos polinsaturados têm menor resistência aos fenómenos de oxidação lipídica quando expostos à luz, à temperatura e à presença de oxigénio, entre outros aspetos. Pelos motivos referidos, o consumidor deve ter alguns cuidados específicos no armazenamento e conservação deste tipo de sementes (Albuquerque et al., 2016). No entanto, a ingestão de alimentos ricos em ácidos gordos polinsaturados está relacionada com inúmeros benefícios para a saúde, sobretudo no que diz respeito à capacidade de baixar os níveis de colesterol LDL e aumentar o colesterol HDL, melhorando deste modo o perfil lipídico e, portanto, podem contribuir para reduzir o risco de aterosclerose e prevenir outras doenças cardiovasculares (Rahimi et al., 2011; Haber et al., 2019).

No caso das sementes de papoila, estas são ricas em ácido oleico, linoleico e palmítico, tendo assim um elevado teor em ácidos gordos polinsaturados (Bozan e Temelli, 2008; Ghafoor et al., 2019; Shetge et al., 2020). O óleo extraído é, comumente, utilizado para fins farmacêuticos, cosméticos e tecnológicos, sendo os ésteres de ácidos gordos iodados utilizados para suplementação de iodo em áreas onde o sal iodado não está disponível (Knutsen et al., 2018).

Para além do teor lipídico, as sementes de papoila também são ricas em fibras alimentares. De facto, 100 g de sementes contêm 19,5g de fibra, o que representa 51% da dose diária recomendada (USDA, 2017). Tal como relatado na literatura, os efeitos positivos da fibra alimentar estão relacionados com o facto de ser metabolicamente inerte, o que faz com que haja uma absorção maior da água e, assim, ajudar a resolver a obstipação. Para além disto, o elevado consumo de fibras também está associado a um menor risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes, isto porque reduz os níveis séricos de colesterol, estabiliza os níveis plasmáticos de glucose e também

está associado a menores níveis séricos de proteína C reativa ultrassensível (Bernaud e Rodrigues, 2013; Spyres et al., 2018).

Estas sementes são excelentes fontes de vitaminas do complexo B, tais como tiamina, ácido pantoténico, piridoxina, riboflavina, niacina e ácido fólico (Ghafoor et al., 2019), tendo por isso uma importante ação no metabolismo celular. As vitaminas do complexo B são as maiores responsáveis pela manutenção da saúde emocional e mental do ser humano e podem ser úteis nos casos de depressão e ansiedade. Para além disto, facilitam a digestão e absorção dos hidratos de carbonos, das proteínas e da gordura (Berdanier et al., 2013; USDA, 2017).

As sementes de papoila também são uma fonte natural de minerais como cálcio, potássio, ferro, cobre, manganês, zinco e magnésio, os quais exercem funções essenciais no organismo. Por exemplo, o potássio é um componente importante da célula e dos fluidos corporais, que ajuda a controlar a frequência cardíaca e pressão arterial, e o manganês é cofator da enzima superóxido dismutase, que tem um papel importante na defesa antioxidante (Berdanier et al., 2013; Sousa et al., 2019).

### *2.1.2 Compostos bioativos e suas atividades biológicas*

A semente de papoila tem sido usada há milhares de anos, devido às suas atividades biológicas. Há artigos que reportam propriedades analgésicas de um chá feito a partir de sementes de papoila não lavadas, que parecem, no entanto, causar dependência (Haber et al., 2019). Para além do efeito analgésico, as infusões de sementes de papoila têm sido utilizadas na medicina tradicional pelas suas atividades antidiarreica e ansiolítica (Monaghan e Peckler, 2013), tendo também estas sementes propriedades expetorantes (Kurian, 2012).

A atividade antibacteriana de infusões e decocções aquosas de sementes de papoila foi investigada contra isolados bacterianos de microrganismos Gram+ e Gram- da cavidade oral de indivíduos aparentemente saudáveis exibindo fraca atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Alcaligenes* spp. e *Micrococcus roseus* (Chaudhry e Tariq, 2008). Contudo, Parveen et al. (2011) reportaram que, de entre várias especiarias e sementes, as sementes de papoila apresentavam maior atividade contra o *Staphylococcus aureus* e *Klebsella*.

A administração de ésteres etílicos iodados de ácidos gordos de sementes de papoila tem sido utilizada para a prevenção de bócio endémico e o cretinismo (Medeiros-Neto e Rubio, 2016). Estes ésteres etílicos iodados, quando misturados com um agente quimioterapêutico, também já foram usados na quimioembolização arterial por transcateter para o tratamento do carcinoma hepatocelular, e injetados na artéria de alimentação do tumor (Olliff e Riley, 2012), sabendo-se há décadas que também podem ser usados intra-arteriamente para aumentar a precisão da tomografia computadorizada em tumores

hepáticos (Higashi et al., 1995).

De facto, nos últimos anos tem-se verificado um aumento na procura de sementes oleaginosas, sobretudo de girassol, sésamo, linhaça e pevides de abóbora, porque o seu consumo está associado a efeitos benéficos para a saúde. Recentemente, surgiram no mercado “novas” sementes que agora fazem parte da nossa alimentação, como por exemplo, as sementes de chia e de papoila. Normalmente, este tipo de produtos é adicionado a outros alimentos como batidos, iogurtes, sumos de fruta, ou são usados como ingredientes na produção de produtos de padaria e/ou pastelaria. Face ao exposto, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de impulsionar os benefícios destas sementes, tanto como ingrediente como matéria-prima. Recentemente, Fotschki et al. (2020) estudaram os efeitos da inclusão alimentar de óleo de sementes de papoila no metabolismo lipídico e no estado antioxidante de dois grupos de ratos Zucker (magros e geneticamente obesos). O grupo de ratos controlo foi alimentado com uma dieta para roedores de laboratório. A inclusão do óleo de sementes de papoila na dieta reduziu os níveis de gordura corporal e de colesterol no fígado, mas promoveu o stresse oxidativo hepático nos ratos obesos, o que parece ser resultado da oxidação intensificada de ácidos gordos polinsaturados no fígado. Por outro lado, foi igualmente observado que, o consumo regular deste óleo aumentou a concentração de ácidos gordos essenciais no fígado dos ratos saudáveis, enquanto nos ratos geneticamente obesos, os benefícios no metabolismo lipídico e na condição antioxidante pareceram ser parciais.

Os autores Yalcin e Maden (2017) produziram macarrão enriquecido com sementes de papoila amarela moídas nas proporções de 5% e 10%. Os resultados obtidos evidenciaram um aumento do teor de compostos fenólicos significativo, comparativamente com a amostra controlo. A presença de tocoferóis também foi evidenciada, mostrando que o enriquecimento destas sementes potenciava as propriedades antioxidantes do macarrão. Com base na ideia de que estas sementes são uma fonte de antioxidantes muito económica, e que, por esse motivo, podem ser usadas em salgados ou biscoitos, Aksoylu et al. (2015) incorporaram sementes de papoila desengorduradas (5%) em biscoitos. Estas, para além de aumentaram o conteúdo fenólico total dos biscoitos, mostraram retardar a oxidação lipídica.

O sucuk é um produto à base de carne, fermentado e seco, popular na Turquia, com um elevado teor de gordura. Com o objetivo de baixar esta concentração de gordura, Gök (2015) substitui parcialmente a gordura animal no sucuk por óleo de sementes de papoila pré-emulsionado e avaliou os seus efeitos. O aumento do nível de óleo de semente de papoila diminuiu a concentração de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, o que pode ser atribuído à atividade antioxidante do α-tocoferol. O teor de colesterol diminuiu, assim como o conteúdo de ácidos gordos saturados, mas o de ácidos gordos polinsaturados aumentou, o que sugere que a substituição parcial da gordura animal no sucuk pelo óleo de sementes de papoila pode trazer benefícios significativos à saúde, tais como redução da

pressão arterial e diminuição da incidência de arritmias cardíacas.

As sementes de papoila são essencialmente usadas como alimento e para a produção de óleo comestível e, não contêm os alcaloides do ópio ou contêm-nos em concentrações muito reduzidas, a não ser que tenham sido contaminadas. A ingestão de quantidades significativas destes alcaloides, pode desencadear várias reações adversas, algumas das quais graves para a saúde humana (Cañavate et al., 2017), o que pode justificar um número pouco extenso de estudos atuais sobre atividades biológicas destas sementes, e possíveis aplicações.

### 2.2 Sementes de quinoa (*Chenopodium quinoa*)

Chenopodium quinoa é um pseudocereal ou pseudo-oleoginosa cultivada maioritariamente no continente Americano, com maior impacto económico em países como Bolívia, Peru, Estados Unidos, Equador, Colômbia, Chile e Argentina (León e Rosell, 2007; Bazile et al., 2016; Aluwi et al., 2017, Altuntas et al., 2018). A nível da sua classificação taxonómica, caracteriza-se como espécie *Chenopodium quinoa*, da família Chenopodiaceae.

Esta planta tem vindo a ser cultivada há milhares de anos pelos povos habitantes da Cordilheira dos Andes, principalmente do Peru e da Bolívia, conhecida pelos Incas como "a semente mãe" e considerada como um presente dos deuses (Gordillo-Bastidas et al., 2016). A quinoa era tradicionalmente usada como ingrediente na alimentação, sendo todas as partes da planta utilizadas (Madl et al., 2006; Aluwi et al., 2017; Altuntas et al., 2018).

Após a conquista espanhola da América do Sul, os colonistas passaram a olhar para a quinoa como um alimento dos índios e, consequentemente, esta passou a ser considerada como um alimento de baixo prestígio social. Adicionalmente, a igreja católica proibiu o seu cultivo depois de descobrir que esta era usada como uma bebida sagrada (Mudai) durante cerimónias religiosas indígenas (Gordillo-Bastidas et al., 2016). No entanto, os incas já lhe tinham reconhecido elevado aporte nutricional e propriedades medicinais (León e Rosell, 2007; Graf et al., 2015; Jacobsen, 2017). Após vários séculos, concretamente na segunda metade do século XX, a quinoa foi redescoberta e desde então o seu cultivo tem aumentado significativamente, de acordo com os dados reportados pela FAO (2013), que indica que, no período 1992–2010, em alguns países produtores da América do Sul, a área cultivada e a produção total chegaram mesmo a triplicar.

Ao longo dos últimos anos, a *Chenopodium quinoa* tem atraído a atenção como um novo recurso alimentar, pelos seus efeitos benéficos para a saúde e, portanto, o interesse pelo seu consumo tem vindo a aumentar, sendo uma planta que se destaca pelo seu elevado valor nutricional e, sobretudo, pela sua alta resistência às intempéries do clima e às condições do solo (Vega-Gálvez et al., 2010; Bazile et al., 2016; Ruiz et al., 2017). As suas partes edíveis são constituídas pelas folhas e sementes, sendo estas últimas as que apresentam maior impacto económico, dado poderem ser utilizadas tanto

na alimentação humana, como em ração animal. Assim, o recurso a este pseudocereal tem vindo a aumentar, como ingrediente integrante numa alimentação saudável, como no fabrico de géneros alimentícios para dietas especiais, como por exemplo celíacos, uma vez que a quinoa é isenta de glúten (Gorinstein et al., 2008; Pagamunici et al., 2014; Reguera et al., 2018). Por outro lado, a quinoa pode ser introduzida na indústria da panificação, no fabrico de pão, farinha, massa, ou noutro tipo de setor alimentar, como chocolate e alimentos infantis (Gutiérrez et al., 2010; Aluwi et al., 2017; Altuntas et al., 2018). Como reconhecimento do seu valor nutricional, as Nações Unidas declararam em 2013 o Ano Internacional da Quinoa (Bazile et al., 2014).

Todos estes fatores ajudaram a contribuir para a sua popularização e, por conseguinte, para o aumento da sua produção, atendendo ao acréscimo do seu consumo. Atualmente, o seu cultivo estende-se por 70 países, sendo o Peru o maior produtor, com 52,1 mil toneladas (50,4 % da produção da América do Sul), seguido da Bolívia, com 50,5 mil toneladas (48,8 %), e Equador, com 800 toneladas (0,8 %) (FAOSTAT, 2013).

### *2.2.1 Composição química*

A globalização tem influenciado as dietas e o estilo de vida de todas as populações. Estudos realizados desde o final do século XX, permitiram perceber que a substituição de padrões alimentares à base de hidratos de carbonos simples, micronutrientes e fibras, por dietas ricas em gorduras animais, hidratos de carbono e gorduras refinadas, tem tido um impacto direto na incidência e prevalência de determinadas doenças crónicas, como a diabetes e as doenças cardiovasculares. Por esta razão, a comunidade científica tem vindo a estudar novos recursos naturais e edíveis que possam apresentar um aporte nutricional variado, equilibrado e saudável (Gordillo-Bastidas et al., 2016).

De facto, este pseudocereal tem tido um grande interesse para a indústria alimentar, nomeadamente no campo da suplementação, pelo seu elevado teor proteico (~12 %) e variedade em aminoácidos essenciais (Maradini-Filho et al., 2017). Palombini et al. (2013) descreveram composições similares de proteínas e minerais no amaranto e na quinoa. Também Repo-Carrasco-Valencia et al. (2010) enfatizaram o seu baixo índice glicémico e isenção de glúten. A quinoa é rica em proteínas de elevado valor biológico (~73 %), similar ao teor proteico de um bife (~74 %) e superior ao do arroz (~56 %), trigo (~49 %) e milho (~36 %) (Gordillo-Bastidas et al., 2016). Para além disso, também contém na sua composição nove aminoácidos essenciais (lisina, isoleucina, leucina, fenilalanina, triptofano, valina, treonina, histidina e metionina), que no total proteico representam cerca de 12,9 % a 16,5 %. De acordo com os valores recomendados de ingestão de proteína para adultos indicados pela FAO (2013), aproximadamente 36,37 g de proteína de quinoa fornecem cerca de 1,80 % de histidina, 2,74 % de isoleucina, 3,38 % de lisina, 2,12 % de metionina + cistina, 3,20 % de fenilalanina + tirosina, 3,31 % de treonina, 2,28 % de

triptofano e 3,23 % de valina (Navruz e Sanlier, 2016). O principal interesse é o elevado valor de lisina, pois este é deficiente na maioria dos grãos comercialmente utilizados para consumo. Também contém um valor elevado de metionina, que é baixo na maioria dos legumes. Por estas razões, a quinoa mostra-se uma fonte promissora de proteínas (Ren et al., 2017).

Devido à ausência de glúten, a quinoa pode ser um ingrediente a considerar na alimentação dos celíacos. A doença celíaca é uma doença autoimune que ocorre em indivíduos com predisposição genética causada pela sensibilidade permanente ao glúten. A ingestão de glúten, ainda que em pequenas quantidades, leva o organismo a desenvolver uma reação imunológica contra o próprio intestino delgado, provocando lesões na mucosa que se traduzem pela diminuição da capacidade de absorção de nutrientes, levando a problemas como anemia por deficiência de ferro, osteopenia, infertilidade, intolerância à lactose, sendo o único método para evitar transtornos intestinais e complicações, uma dieta isenta em glúten (Pellegrini et al., 2018).

Os hidratos de carbono atuam como moléculas de sinalização, fontes de energia e componentes estruturais. O amido é a maior fonte de energia da dieta humana. A quinoa contém entre 58,1 a 64,2 % de amido, em base seca, do qual 11 % é amilose. A quinoa apresenta ainda, aproximadamente, 3 % de açúcares simples, sendo na sua maioria, maltose, seguida de D-galactose e D-ribose, apresentando baixos teores de frutose e glucose (Saturni et al., 2010; Lee et al., 2015).

A nível da fibra alimentar total, a quinoa apresenta teores em fibras idênticos aos descritos noutros cereais (2,6 a 10 %), sendo que cerca de 78 % do seu teor de fibras é insolúvel e 22 % solúvel (Lamothe et al., 2015; Tang e Tsao, 2017).

A quinoa possui um teor lipídico compreendido entre 2,0 e 9,5 %, sendo rica em ácidos gordos essenciais, dos quais se destacam o ácido linoleico e α-linoleico como principais constituintes. O seu conteúdo lipídico encontra-se protegido pela vitamina E, antioxidante natural que impede a oxidação das gorduras, garantindo que as mesmas não se degradem facilmente, tratando-se de uma vantagem para a utilização da quinoa na indústria alimentar (Borges et al., 2010; Carciochi et al., 2015; Tang et al., 2015; Nickel et al., 2016).

Para além dos macronutrientes, a quinoa também é considerada como uma boa fonte de minerais e vitaminas do complexo B (riboflavina e ácido fólico), quando comparada com aveia, arroz e milho. Salvo as vitaminas do complexo B, contém as vitaminas C e E (tocoferóis) e alguns dos minerais mais importantes para o metabolismo humano (Ca, K, Fe, Mg, Mn, P) (Cozzolino, 2005; Miranda et al., 2012; Tang et al., 2015; Gordillo-Bastidas et al., 2016; Mohyuddin et al., 2019). A riboflavina aumenta o metabolismo energético do cérebro e dos músculos e o ácido fólio tem um papel crucial na função cerebral e na saúde emocional e mental (Singh et al., 2016). A quinoa é uma fonte rica em micronutrientes fundamentais para a manutenção de uma dieta equilibrada (Gordillo-Bastidas, 2016;

Mohyuddin et al., 2019).

### 2.2.2 Compostos bioativos e suas atividades biológicas

A quinoa é um excelente exemplo de alimento funcional, podendo auxiliar na diminuição do risco de várias doenças, entre as quais se destacam as doenças cardiovasculares, a diabetes mellitus tipo 2, alguns tipos de cancros, a obesidade e a tensão arterial elevada, para além de ser uma boa opção para pessoas com alergias a alguns alimentos, como é o caso das proteínas de trigo (Singh et al., 2016; Park et al., 2017). As suas propriedades funcionais estão relacionadas com os seus diversos constituintes, nomeadamente os compostos fenólicos, os quais apresentam diversas atividades, entre as quais antioxidante, protetora cardiovascular, anti-alérgica, anti-inflamatória, antivírica e antineoplásica (Khan et al., 2010; Park et al., 2017; Capraro et al., 2020). A quinoa é rica em polifenois, sendo os maioritários os ácidos protocatecuico e ferúlico; dentro dos flavonoides destacam-se a quercetina, rutina e canferol (Alvarez-Jubete et al., 2010; Carciochi et al., 2015; Gordillo-Bastidas et al., 2016; Nickel et al., 2016).

Para além dos compostos fenólicos, a sua capacidade antioxidante também se deve à presença da vitamina E. Esta última, de reconhecido poder antioxidante e protetor das membranas, resiste excecionalmente bem às altas temperaturas que se utilizam na transformação do grão. Por outro lado, a bioatividade das isoflavonas presentes na quinoa também se encontra descrita como fortemente antioxidante (Escribano et al., 2017). As isoflavonas que se encontram nas sementes da quinoa são a daidzina e a genistina, sendo as suas respetivas agliconas a daidzeína e a genisteína, consideradas fitoestrogénios devido à sua capacidade de se ligarem a recetores de estradiol (Vega-Gálvez et al., 2010; Abderrahim et al., 2015; Ruiz et al., 2017).

Diversos estudos foram realizados para demonstrar os efeitos biológicos que alguns dos compostos da quinoa podem exercer. Num estudo prospetivo e duplamente cego realizado por Carvalho et al. (2014) em mulheres com excesso de peso e na menopausa, avaliou-se o efeito da ingestão de 25 g de flocos de trigo e de 25 g de flocos de quinoa durante 4 semanas. O grupo que consumiu flocos de quinoa demonstrou uma redução significativa dos triglicéridos, uma tendência na redução do colesterol total e de colesterol LDL e um aumento da glutationa.

Num estudo realizado por Alghamdi (2018), 32 machos ratos Wistar foram divididos em quatro grupos diferentes e alimentados de modo diferentes durante 60 dias: o grupo controle negativo (grupo 1) foi alimentado com uma dieta basal; o grupo controle positivo (grupo 2) recebeu a dieta basal + 2 % de colesterol para garantir que os ratos desenvolviam hipercolesterolemia; os grupos experimentais 3 e 4 receberam a dieta acrescida de colesterol, tal como o segundo grupo 2, com um suplemento de 35 % e de 45 %, respetivamente, de quinoa adicionado à dieta. Como resultados, os grupos alimentados

com quinoa demonstraram uma redução significativa de colesterol total e de triglicéridos, um aumento das concentrações plasmáticas de colesterol HDL e uma diminuição no ganho de peso. Mais especificamente, os autores concluíram que uma dieta com 45 % de quinoa reduziu o efeito adverso da hipercolesterolemia. Estes dados corroboram o estudo de Pásko et al. (2010), os quais observaram que animais alimentados com dietas ricas em frutose tiveram aumento nas concentrações de colesterol HDL quando tratados com sementes de quinoa. Segundo Ujiroghene e colaboradores (2020), este aumento pode ser explicado pela presença de ácidos gordos polinsaturados (58,3 %), principalmente o linoleico (cerca de 90 %), nos grãos de quinoa, que têm efeitos protetores em doenças cardiovasculares e melhoram a sensibilidade à insulina.

Jenkins et al. (2008) seguiram, durante 6 meses, 210 pessoas divididas em dois grupos, um com uma dieta rica em cereais com bastante fibra e outro com uma dieta com baixo índice glicémico (onde se incluiu o consumo de quinoa). Observou-se que o grupo com uma dieta com baixo índice glicémico diminuiu a hemoglobina glicosilada A1c (-0,50 %) de um modo estatisticamente significativo. Pineli et al. (2015) concluíram que o leite de quinoa representa uma alternativa aos atuais produtos substitutos do leite, não causando efeitos adversos conhecidos no ser humano e que possui um teor de proteínas aumentado e um baixo índice glicémico.

Zevallos et al. (2014) conduziram um estudo em doentes celíacos que consumiram 50 g/dia de quinoa durante 6 semanas como parte da sua dieta livre de glúten; após esse tempo foram efetuadas biópsias duodenais e retiradas amostras sanguíneas. O consumo de quinoa foi bem tolerado e não houve uma exacerbação da apresentação da doença celíaca. Por outro lado, o estudo também demonstrou uma tendência positiva nos parâmetros histológicos e uma diminuição do colesterol total.

Em suma, a inclusão de quinoa na dieta pode diminuir o stress oxidativo, melhorar o perfil lipídico, ajudar a controlar o peso corporal e os níveis séricos de glicose, bem como prevenir o risco de doença cardiovascular e a diabetes mellitus tipo 2. No entanto, até ao momento, foram realizados poucos estudos com quinoa (ou com compostos à base de quinoa) in vitro, in vivo ou ensaios clínicos, para ter fortes evidências científicas dos benefícios deste pseudocereal para a saúde humana (Gordillo-Bastidas et al., 2016; Park et al., 2017; Pellegrini et al., 2018; Lim et al., 2020).

## 2.3 Toxicidade

Antinutrientes são substâncias que interferem na digestibilidade, absorção e uso de nutrientes e não nutrientes, bloqueando as vias metabólicas e diminuindo sua biodisponibilidade (Popova e Mihaylova, 2019). Os antinutrientes são uma classe de compostos presentes numa extensa variedade de alimentos de origem vegetal que, quando consumidos, reduzem valores nutricionais destes últimos, podendo acarretar efeitos prejudicais à saúde se ingeridos em grandes quantidades (Benevides et al., 2011;

Ekpa e Sani, 2018).

Os principais antinutrientes existentes nas sementes de papoila são o ácido fítico, inibidores da α-amilase e o cianeto ($CN^-$) (Popova e Mihaylova, 2019). Um inibidor da α-amilase é uma substância que se liga a esta enzima, tornando-a inativa. A função primária dos inibidores de α-amilase é proteger a semente contra microrganismos e pragas. A outra função, que consiste na inibição da α-amilase endógena, sofre algumas falhas ao ser usado como bloqueador de amido, devido à instabilidade deste inibidor, sensível ao calor, nas condições do trato gastrointestinal. Um inibidor da α-amilase tem várias aplicações na indústria alimentar, podendo também ser usado para controlar a diabetes tipo 2, uma vez que reduz os níveis de insulina (Okada et al., 2008; Tysoe et al., 2016). A ingestão de cianeto, proveniente de alimentos ricos em glicosídeos cianogénicos e pouco processados (ou não processados), como sementes, pode originar intoxicações crónicas e agudas. É ainda de referir que o $CN^-$ é um potente inibidor da citocromo oxidase, bloqueando a cadeia transportadora de eletrões, pondo em causa a respiração aeróbica (Naves et al., 2010).

Como já referido, as sementes de papoila, em princípio, não contêm alcaloides do ópio. Contudo, estas podem ficar contaminadas com alcaloides como resultado do ataque de insetos à cápsula ou por contaminação externa durante a colheita, devido a práticas de colheita precárias (Cañavate et al., 2017). O consumo de alimentos contendo sementes de papoila com níveis aumentados de alcaloides do ópio, pode levar à ingestão de quantidades significativas destes mesmos alcaloides, podendo desencadear diversas reações adversas, incluindo efeitos nervosos centrais e periféricos, tais como alteração do estado de consciência, distúrbios respiratórios e efeitos cardiovasculares. Para além disto, o seu consumo pode levar a conteúdos detetáveis de morfina livre no sangue, bem como concentrações mensuráveis na urina, suficientes para interferir no teste de abuso de drogas (Thevis et al., 2003; Montgomery et al., 2019; Eisenreich et al., 2020; Montgomery et al., 2020).

Segundo dados de Knutsen e colaboradores (2018), que receberam os resultados da análise de 1033 amostras de sementes de papoila e alimentos contendo sementes de papoila de quatro países europeus (Alemanha, Hungria, Áustria e Países Baixos), a morfina foi o principal alcaloide detetado nessas amostras. Atualmente, na União Europeia não existe legislação que regulamente a quantidade de alcaloides que podem estar presentes nas sementes de papoila utilizadas na alimentação, embora a Hungria seja o único país com essa regulamentação, sendo os níveis máximos de 30 mg/kg para a morfina, 20 mg/kg para a noscapina, tebaína e codeína, 40 mg/kg para a morfina e noscapina (Knutsen et al., 2018). Segundo Trafkowski et al. (2006) as sementes de papoila (cruas ou processadas) apresentam teores de: 0-450 $\mu$g/g de morfina; 0-57 $\mu$g/g de codeína; 0,84-230 $\mu$g/g de noscapina; 0-41 $\mu$g/g de tebaína e 0-67 $\mu$g/g de papaverina. As estimativas da exposição alimentar à morfina, através dos alimentos que contêm sementes de papoila, demonstram que a dose aguda de referência pode ser excedida com uma única porção por alguns

consumidores, em especial as crianças, em toda a União Europeia.

Após análise dos vários antinutrientes, diversos estudos sugerem que a lavagem com água corrente, bem como processos de cocção, podem ser os métodos mais recomendáveis para reduzir a quantidade da maioria dos antinutrientes presentes nestas sementes (Silva et al., 2015; Singh et al., 2016; Maradini-Filho et al., 2017). O teor em alcaloides das sementes de papoila e de alimentos que contêm sementes de papoila pode ser reduzido por vários métodos de pré-tratamento e processamento. O processamento de alimentos pode diminuir o teor de alcaloides até cerca de 90 %. Para além da lavagem e da cocção, os métodos mais eficazes incluem tratamentos térmicos, bem como moagem e a combinações destes processos (Knutsen et al., 2018). No que toca a reação alérgicas, os relatos de sensibilidade alérgica tipo I às sementes de papoila são raros. De acordo com a literatura, podem ocorrer reações severas, afetando principalmente pessoas com alergia a pólenes ou nozes (Keskin e Sekerel, 2006; Devereaux et al., 2018; Spyres et al., 2018).

Por outro lado, nas sementes de quinoa, os antinutrientes mais relevantes são as saponinas, o ácido fítico, os oxalatos, os inibidores de proteases, os taninos e os nitratos. Estas substâncias encontram-se presentes em maior concentração nas camadas externas do grão (Borges et al., 2010; Lin et al., 2019; Lim et al., 2020).

A quinoa contém saponinas nas camadas mais externas do grão, que lhe confere um sabor amargo e, quando consumidas em grandes quantidades, podem causar irritação gástrica. O conteúdo em saponinas pode variar entre 0,1 % e 5 %, relativamente à massa do grão. Contudo, para a remoção das saponinas sem qualquer modificação significativa no aporte nutricional da quinoa, basta lavar o grão com água fria antes de cozinhar, devido à alta solubilidade destes compostos neste solvente. De facto, a presença de compostos amargos, tais como as saponinas, afeta fortemente a aceitação da quinoa. Logo, o consumo deste grão como um valioso ingrediente nutritivo, deve ter em consideração este aspeto (Brady et al., 2007; Suárez-Estrella et al., 2018).

O oxalato também já foi descrito nas sementes de quinoa. O oxalato é uma substância tóxica e representa riscos para a saúde. É frequentemente encontrado em vegetais como espinafre, beterraba, acelga, ruibarbo, tomate, nozes e cacau (Siener et al., 2006; Kaur E Intelli, 2016). Não pode ser metabolizado pelos humanos, sendo excretado na urina. A elevada ingestão de oxalato na dieta influencia a absorção de minerais e de oligoelementos e desempenha um papel-chave na hiperoxalúria, fator de risco para a formação de cálculos de oxalato de cálcio nos rins, devido à capacidade do oxalato para formar complexos insolúveis com catiões divalentes (Jancurová et al., 2009; Kaur e Intelli, 2016). Outro dos antinutrientes mais comuns é a ácido fítico. Trata-se de um ácido cíclico saturado e é a principal forma de armazenamento de fósforo em muitos tecidos vegetais. O ácido fítico liga-se a diversos minerais, tornando-os assim indisponíveis para absorção e consequente metabolização (Gupta et al., 2015; Mohyuddin et al., 2019).

## 3 I CONCLUSÃO

A procura por uma vida mais saudável, por alimentos nutricional e economicamente viáveis tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas.

Os inúmeros estudos e pesquisas realizadas demonstraram uma relação direta entre uma má alimentação e o aparecimento de determinadas patologias, tendo despertado, a nível mundial, uma consciencialização para a importância de seguir uma dieta alimentar saudável.

Para potencializar os efeitos benéficos de uma dieta alimentar, melhorando a saúde, acabaram por surgir os alimentos funcionais, que, embora não curem, apresentam componentes ativos capazes de prevenir ou diminuir o risco de algumas patologias, como é o caso da obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes.

É importante lembrar que as sementes devem fazer parte de uma alimentação nutricionalmente completa, variada e equilibrada, para que seja possível aproveitar os seus benefícios. A adoção de hábitos de vida saudáveis e equilibrados devem ser a base de qualquer processo de emagrecimento, prevenção de doenças e melhoria de qualidade de vida.

As sementes de papoila e de quinoa têm benefícios potenciais para a saúde e valor nutricional excecional, salientando-se a alta concentração em ácidos gordos insaturados, proteínas, minerais, vitaminas e fibras. Como propriedades biológicas destas sementes, são de referir a atividade antioxidante, protetora cardiovascular, antibacteriana, antineoplásica, entre outras. É ainda de acrescentar que são sementes que, pela sua versatilidade, podem ser facilmente incorporadas na alimentação atual.

## REFERÊNCIAS


ABDERRAHIM, F., HUANATICO, E., SEGURA, R., ARRIBAS, S., GONZALEZ, M.C., CONDEZO-HOYOS, L. **Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of colored quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano.** Food Chemistry, v.183, p.83-90, Sept. 2015

ADAY, S., ADAY, M.S. **Impact of COVID-19 on the food supply chain**. Food Quality and Safety, v.4, p.167-180, Aug. 2020

AKSOYLU, Z., ÇAĞINDI, O., KÖSE, E. **Effects of blueberry, grape seed powder and poppy seed incorporation on physicochemical and sensory properties of biscuit**. Journal of Food Quality, v.38, n.3, p.164-174, Mar. 2015

ALBUQUERQUE, T.G., OLIVEIRA, M.B., COSTA, H.S. **Edible seeds: fatty acids composition and potential health impact**. Boletim Epidemiológico, v.5, n.8, p.12-15, 2016. Disponível em: www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/PublicacoesRepositorio/Paginas/PublicacoesPeriodicas.aspx. Acesso em: 14 setembro 2020

ALGHAMDI, E.S. **Protective effect of quinoa (Chenopodium quinoa willd.) seeds against hypercholesterolemia in male rats.** Pharmacophore, v.9, n.6, p.11-21, Dec. 2018

ALTUNTAS, E.A., NANELI, I., SAKIN, M.A. **Some selected engineering properties of seven genotypes in quinoa seeds.** Advances in Agricultural Science, v.6, n.2, p.36-49, Apr.2018

ALUWI, N.A., MURPHY, K.M., GANJYAL, G.M. **Physicochemical characterization of different varieties of quinoa.** Cereal Chemistry, v.94, n.5, p.847-856, June 2017

ALVAREZ-JUBETE, L., WIJNGAARD, H., ARENDT, E.K., GALLAGHER, E. **Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking.** Food Chemistry, v.119, n.2, p.70-778, Mar. 2010

ANJO, D.C. **Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular.** Jornal Vascular Brasileiro, v.3, n.2, p.145-154, jun. 2004

BAZILE, D.; BERTERO, H.; NIETO, C. **La quinoa en Chile.** Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013**.** FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia), 2014

BAZILE, D., JACOBSEN, S.-E., VERNIAU, A. **The global expansion of quinoa: trends and limits**. FrontIERS in Plant Science, v.7, n.622, p.1-6, May 2016

BENEVIDES, J., SOUZA, M., SOUZA, R., LOPES, M. **Fatores antinutricionais em alimentos: Revisão.** Segurança Alimentar e Nutricional, v.18, n. 2, p.62-79, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.20396/san.v18i2.8634679. Acesso em: 23 setembro 2020

BERDANIER, C.D.; DWYER, J.; HEBER, D. **Handbook of Nutrition and Food.** 3th ed. CRC Press, 2013, 1136 p. ISBN: 9781466505711

BERNAUD, F.S.R., RODRIGUES, T. C. **Fibra alimentar - Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, v. 57, n.6, p.397-405, Aug. 2013.

BLAND, J.S.; LEVIN, B.; COSTARELLA, L. **Clinical nutrition: a functional approach.** 2nd ed. Gig Harbor, WA: The Institute for Functional Medicine, 2004. ISBN: 978-0977371327

BORGES, J.T., BONOMO, R., PAULA, C., OLIVEIRA, L., CESÁRIO, M. C. **Características físico-químicas, nutricionais e formas de consumo da Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.).** Temas Agrários, v.15, n.1, p.9-23, jun. 2010

BOZAN, B., TEMELLI, F. **Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils.** Bioresource of Technology, v.99, n.14, p.6354-6359, Oct. 2008

BRADY, K., HO, C., ROSEN, R., SANG, S., KARWE, M. **Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa.** Food Chemistry, v.100, p.1209-1216, Dec. 2007

CABRAL, C., PITA, J.R. **A evolução das formas farmacêuticas**. Centro de Estudos Interdisciplinares do Século XX (CEIS 20), jul-nov 2015. Disponível em: http://www.uc.pt/ffuc/patrimonio_historico_farmaceutico/publicacoes/catalogosdeexposicoes/catalogo_2exp.pdf. Acesso em: 20 outubro 2020

CAÑAVATE, J.L., PÉREZ, G., CABALLERO, A., MARÍ, J., RODRÍGUEZ, R. **Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) in relation to the assessment of the exposure of the Spanish population to morphine resulting from the consumption of poppy seeds**. Comité Científico de la AECOSAN, May 2017. Disponível em: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_cc_ingles/POPPY_SEEDS.pdf. Acesso em: 14 setembro 2020

CAPRARO, J., DE BENEDETTI, S., DIO, M., BONA, E., ABATE, A., CORSETTO, P., SCARAFONI, A. **Characterization of Chenopodin Isoforms from Quinoa Seeds and Assessment of Their Potential Anti-Inflammatory Activity in Caco-2 Cells**. Biomolecules, v.10, n.5, p.795-810, May 2020

CARCIOCHI, R.A., MANRIQUE, G.D., DIMITROV, K. **Optimization of antioxidant phenolic compounds extraction from quinoa (Chenopodium quinoa) seeds.** Journal of Food Science and Technology, v.52, n.7, p.4396-4404, July 2015

CARVALHO, F.G., OVÍDIO, P., PADOVAN, G., JORDÃO JUNIOR, A., MARCHINI, J., NAVARRO, A.M. **Metabolic parameters of postmenopausal women after quinoa or corn flakes intake a prospective and double blind study**. International Journal of Food Sciences and Nutrition, v.65, n.3, p.380-385, Dec. 2013

CHAUDHRY, N.M.A., TARIQ, P. **In vitro antibacterial activities of Kalonji, Cumin and Poppy seed.** Pakistan Journal of Botany, v. 40, n.1, p.461-467, 2008. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/5c42/98060c20e828c0e0a2eb652ff58ee5c88cda.pdfI. Acesso em: 8 novembro 2020

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.41, n.1, p.87-98, jan.-mar. 2005

DA COSTA, J.P. **A current look at nutraceuticals - Key concepts and future prospects.** Trends in Food Science and Technology, v. 62, p. 68-78, Apr. 2017

DALIU, P., SANTINI, A., NOVELLINO, E. **From pharmaceuticals to nutraceuticals: Bridging disease prevention and management.** Expert Review of Clinical Pharmacology, v.12, n.1, p.1-7, Jan. 2019

DEVEREAUX, A., MERCER, S., CUNNINGHAM, C. **Dark classics in chemical neuroscience: morphine.** ACS Chem Neuroscience, v.9, n.10, p.2395-2407, Oct. 2018

DIAZ, L., FERNANDEZ-RUIZ, V., CÁMARA, M. **The frontier between nutrition and pharma: The international regulatory framework of functional foods, food supplements and nutraceuticals.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.60, n.10, p.1738-1746, Mar. 2019

DUARTE, D.F. **Opium and Opioids: A Brief History**. Revista Brasileira Anestesiologia, v. 55, n.1, p.135 – 146, Feb. 2005

EISENREICH, A., SACHSE, B., GÜRTLER, R., DUSEMUND, B., LINDTNER, O., SCHÄFER, B. **What do we know about health risks related to thebaine in food?** Food Chemistry, v.309, e25564, Mar. 2020

EKPA, E., SANI, D. **Phytochemical and anti-nutritional studies on some commonly consumed fruits in lokoja, kogi state of Nigeria.** General Medicine, v.2, n.3, p.1-5, May 2018

ESCRIBANO, J., CABANES, J., JIMÉNEZ-ATIÉNZAR, M., IBAÑEZ-TREMOLADA, M., GÓMEZ-PANDO, L.R., GARCÍA-CARMONA, F., GANDÍA-HERRERO, F. **Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (Chenopodium quinoa) varieties.** Food Chemistry, v.234, p.285-294, Nov. 2017

FAO. **Quinoa - nutritional value**. International year of quinoa 2013, 2013. Disponível em: http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/nutritional-value/en/?no_mobile=1. Acesso em: 7 setembro 2020

FAOSTAT. **Quinoa**. Food and Agriculture Organization, 2013. Disponível em: http://www.fao.org/quinoa/en/. Acesso em: 7 setembro 2020

FOTSCHKI, B., OPYD, P., JUŚKIEWICZ, J., WICZKOWSKI, W., JURGOŃSKI, A. **Comparative effects of dietary hemp and poppy seed oil on lipid metabolism and the antioxidant status in lean and obese Zucker rats.** Molecules, v.25, n.12, 2921, June 2020

GHAFOOR, K., ÖZCAN, M.M., AL-JUHAIMI, F., BABIKER, E.E., FADIMU, G.J. **Changes in quality, bioactive compounds, fatty acids, tocopherols, and phenolic composition in oven- and microwaveroasted poppy seeds and oil.** LWT- Food Science and Technology, v. 99, p.490-496, Jan. 2019

GÖK, V. **Effect of Replacing Beef Fat with Poppy Seed Oil on Quality of Turkish Sucuk.** Korean Journal for Food Science Animal of Resources, v.35, n.2, p.240–247, Apr. 2015

GORDILLO-BASTIDAS, E., DIAZ-RIZZOLO, D.A., ROURA, E., MASSANÉS, T., GOMIS, R. **Quinoa (Chenopodium quinoa Willd), from nutritional value to potential health benefits: An integrative review.** Journal of Nutrition & Food Sciences, v.6, n.3, 1000497, Apr. 2016

GORINSTEIN, S., LOJEK, A., ČÍŹ, M., PAWELZIK, E., DELGADO-LICON, E., MEDINA, O., MORENO, M., SALAS, I., GOSHEV, I. **Comparison of composition and antioxidant capacity of some cereals and pseudocereals.** International Journal of Food Science and Technology, v.43, n.4, p.629-637, Jan. 2008

GRAF, B. L., ROJAS-SILVA, P., ROJO, L.E., DELATORRE-HERRERA, J., BALDEÓN, M.E., RASKIN, I. **Innovations in health value and functional food development of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)**. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v.14, n.4, p.431-445, July 2015

GUPTA, R.K., GANGOLIYA, S., SINGH, N. **Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains.** Journal of Food Science and Technology, v.52, n.2, p.676-684, Feb. 2015

GUTIÉRREZ, C., RUBILAR, M., JARA, C., VERDUGO, M., SINEIRO, J., SHENE, C. **Flaxseed and flaxseed cake as a source of compounds for food industry.** Journal of Plant Nutrition and Soil Science, v.10, n.4, p.454-463, 2010. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-95162010000200006&lng=es&nrm=iso. Acesso em: 10 setembro 2020

HABER, I., PERGOLIZZI, J., LEQUANG, J.A. **Poppy seed tea: A short review and case study.** Pain and Therapy, v.8, n.1, p.151-155, June 2019

HIGASHI, S., SHIMIZU, M., NAKASHIMA, T., IWATA, K., UCHIYAMA, F., TATENO, S., TAMURA, S., SETOGUCHI, T. **Arterial-injection chemotherapy for hepatocellular carcinoma using monodispersed poppy-seed oil microdroplets containing fine aqueous vesicles of epirubicin. Initial medical application of a membrane-emulsification technique**. Cancer, v.75, n.6, p.1245-1254, Mar. 1995

JACOBSEN, S.-E. **The scope for adaptation of quinoa in Northern Latitudes of Europe.** Journal of Agronomy and Crop Science, v.203, n.3, p.603-613, Aug. 2017

JANCUROVÁ, M., MINAROVIČOVÁ, L., DANDÁR, A. **Quinoa - a review**. Czech Journal Food Science, v.27, n.2, p.71-79, Mar. 2009

JENKINS, D.J., KENDALL, C., MCKEOWN-EYSSEN, G., JOSSE, R., SILVERBERG, J., BOOTH, G., VIDGEN, E., JOSSE, A., NGUYEN, T., CORRIGAN, S., BANACH, M., ARES, S., MITCHELL, S., EMAM, A., AUGUSTIN, L., PARKER, T., LEITER, L. **Effect of a low-glycemic index or a high-cereal fiber diet on type 2 diabetes: a randomized trial.** The JAMA Network, v.300, n.23, p.2742-2753, Dec. 2008

KAUR K, INTELLI B. **Quinoa beverages: formulation, processing and potential health benefits.** Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases, v.23, n.2, p.215-225, June 2016

KESKIN, O., SEKEREL, B. **Poppy Seed Allergy: A case report and review of the literatura**. Allergy and Asthma Proceedings, v.27, n.4, p.396-398, July 2006

KHAN, N., ADHAMI, V.M., MUKHTAR, H. **Apoptosis by dietary agents for prevention and treatment of prostate cancer.** Endocrine Related Cancer, v.17, n.1, p.39-52, Jan. 2010

KNUTSEN, H.K., ALEXANDER, J., BARREGÅRD, L., BIGNAMI, M., BRÜSCHWEILER, B., CECCATELLI, S., COTTRILL, B., DINOVI, M., EDLER, L. **Update of the scientific opinion on opium alkaloids in poppy seeds.** EFSA Journal, v.16, n.5, e05243, May 2018

KOSTENKO, E., BUTENKO, E., GOLUBEVA, M., ARSENEVA, L. **Determining the microelement composition of poppy seeds using solidphase spectrophotometry method.** Eastern-European Journal of Enterprise Technologies, v.2, n.11, p.23-28, 2018. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/364e/2c96838c572d72a3bdcb5fbae5c6288a356e.pdf?_ga=2.205260242.352341511.1618614271-1432732867.1612012731. Acesso em: 3 novembro 2020

KURIAN, A. Health benefits of herbs and spices. *In*: Peter, K.V. (Ed.). **Handbook of Herbs and Spices - Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition.** Elsevier, 2012**.** pp 72-88

LAINER, J., DAWID, C., DUNKEL, A., GLASER, P., WITTL, S., HOFMANN, T. **Characterization of bitter-tasting oxylipins in poppy seeds (Papaver somniferum L.).** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.68, n.38, p.10361-10373, Jan. 2020

LAMOTHE, L.M., SRICHUWONG, S., REUHS, B., HAMAKER, B. **Quinoa (Chenopodium quinoa W.) and amaranth (Amaranthus caudatus L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans.** Food Chemistry, v.167, n.15, p.490-496, Jan. 2015

LEE, D., HWANG, W., ARTAN, M., JEONG, D., LEE, S. **Effects of nutritional components on aging**. Aging Cell, v.14, n.1, p.8-16, Feb. 2015

LEÓN, A.E.; ROSELL, C.M., et al. **De tales harinas, tales panes: Granos, Harinas Y Productos De Panificación En Iberoamérica**. 1a ed. Córdoba, Diital CSIC, 2007. ISBN: 9789871311071. Disponível em: https://digital.csic.es/bitstream/10261/17118/1/libro%20panificacion-2007.pdf. Acesso em: 27 novembro 2020

LIM, J.G., PARK, H.M., YOON, K.S. **Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (Chenopodium quinoa Willd.)**. Food Science & Nutrition, v.8, n.1, p.694-702, Jan. 2020

LIN, M., HAN, P., LI, Y., WANG, W., LAI, D., ZHOU, L. **Quinoa secondary metabolites and their biological activities or functions.** Molecules, v.24, n.13, 2512, July 2019

LOPEZ, P., PEREBOOM-DE FAUW, D.H., MULDER, P.J., SPANJER, M., DE STOPPELAAR, J., MOL, H.G.J., DE NIJS, M. **Straightforward analytical method to determine opium alkaloids in poppy seeds and bakery products**. Food Chemistry, v.242, p.443-450, Mar. 2018

MADL, T., STERK, H., MITTELBACH, M., RECHBERGER, G. **Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of Chenopodium quinoa**. Journal Of the American Society For Mass Spectrometry, v.17, n.6, p.795-806, Apr. 2006

MAEDA-YAMAMOTO, M. **Development of functional agricultural products and use of a new health claim system in Japan.** Trends in Food Science & Technology, v.69 (Part B), p.324-332, Nov. 2017

MARADINI-FILHO, A.M., PIROZI, M., BORGES, J., PINHEIRO-SANT'ANA, H. **Quinoa: nutritional, functional, and antinutritional aspects.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.57, n.8, p.1618-1630, May 2017

MARTINS, F., PINHO, O., FERREIRA, I. **Alimentos Funcionais: conceitos, definições, aplicações e legislação.** Revista Sociedade Portuguesa de Ciências da Nutrição e Alimentação - Alimentação Humana, v.10, n.2, p.67-78, 2004. Disponível em: https://hdl.handle.net/10216/52634. Acesso em: 10 outubro 2020

MEDAWAR, E., HUHN, S., VILLRINGER, A., WITTE, A.V. **The effects of plant-based diets on the body and the brain: a systematic review.** Translation Psychiatry, 9, article 226, Sept. 2019

MEDEIROS-NETO, G., RUBIO, I.G.S. Iodized Oil. *In:* Jameson, J.L., De Groot, L. (Eds) **Endocrinology: Adult and Pediatric**. 7th ed. Elsevier, 2016. ISBN: 9780323189071

MENRAD, K. **Market and marketing of functional food in Europe.** Journal of Food Engineering, v.56, n.2-3, p.181-188, Feb. 2003

MIRANDA, M.A, VEGA-GÁLVEZ, A., QUISPE-FUENTES, I., RODRÍGUEZ, M., MAUREIRA, H., MARTÍNEZ, E. **Nutritional aspects of six quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile**. Chilean Journal of Agricultural Research, v. 72, n.2, p.175-181, May 2012

MOHYUDDIN, S.G., RIAZ, A., QAMAR, A., ALI, S.H., HU, C., WU, L., YU, T., JU, X.H. **Quinoa is beneficial to the comprehensive nutritional value of potential health**. Pakistan Journal of Science, v.71, n.2, p.69-74, June 2019

MOLLET, B., ROWLAND, I. **Functional foods: at the frontier between food and pharma**. Current Opinion Biotechnology, v.13, n.5, p.483-485, Oct. 2002

MONAGHAN, D., PECKLER, B. **Parenteral poppy seed tea packs a powerful punch**. New Zealand Medical Journal, v.126, n.1387, p.175-178, Dec. 2013

MONTGOMERY, M.T., CONLAN, X.A., BARNETT, N.W., THEAKSTONE, A.G., QUAYLE, K., SMITH, Z.M. **Determination of morphine in culinary poppy seed tea extractions using high performance liquid chromatography with chemiluminescence detection**. Australian Journal of Forensic Sciences, v.51, n.1, p.S225-S228, Jan. 2019

MONTGOMERY, M.T., CONLAN, X.A., THEAKSTONE, A.G., PURCELL, S.D., BARNETT, N.W., SMITH, Z.M. **Extraction and determination of morphine present on the surface of australian food grade poppy seeds using acidic potassium permanganate chemiluminescence detection.** Food Analytical Methods, v.13, p.1159-1165, Mar. 2020

NASTASE, A.F., ANAND, J., BENDER, A., MONTGOMERY, D., GRIGGS, N., FERNANDEZ, T., JUTKIEWICZ, E., TRAYNOR, J., MOSBERG, H. **Dual pharmacophores explored via structure–activity relationship (SAR) matrix: insights into potent, bifunctional opioid ligand design**. Journal of Medicinal Chemistry, v.62, n.8, p.4193-4203, Apr. 2019

NAVES, L.P., CORRÊA, A.D., DOS SANTOS, C.D., DE ABREU, C.M.P. **Componentes antinutricionais e digestibilidade proteica em sementes de abóbora (Cucurbita maxima) submetidas a diferentes processamentos.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.30 (Supl.1), p.180-184, maio 2010

NAVRUZ, V., SANLIER N. **Nutritional and health benefits of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.).** Journal of Cereal Science, v.69, p.371-376, May 2016

NICKEL, J., SPANIER, L.P., BOTELHO, F.T., GULARTE, M.A., HELBIG, E. **Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of Chenopodium quinoa Willd grains.** Food Chemistry, v. 209, p.139-143, Oct. 2016

OKADA, Y., IIMURE, T., TAKOI, K., KANEKO, T., KIHARA, M., HAYASHI, K., ITO, K., SATO, K., TAKEDA, K. **The influence of barley malt protein modification on beer foam stability and their relationship to the barley dimeric** α**-amylase inhibitor-I (BDAI-I) as a possible foam promoting protein.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.56, n.4, p.1458-1464, Feb. 2008

OLLIFF, J., RILEY, P. Non-water-soluble iodinated contrast agents. *In*: Aronson, J. (Ed.). **Side Effects of Drugs Annual 34**. Elsevier, 2012. ISBN 13: 978-0-444-59499-0

PAGAMUNICI, L.M., SOUZA, A., GOHARA, A., SILVESTRE, A., VISENTAINER, J., SOUZA, N., GOMES, S., MATSUSHITA, M. **Multivariate Study and regression Analysis of gluten-free granola.** Food Science and Technology, v.34, n.1, p.127-134, Feb. 2014

PALOMBINI, S.V., CLAUS, T., MARUYAMA, S., GOHARA, A., SOUZA, A., PEREIRA, A., SOUZA, N., VISENTAINER, J., GOMES, S., MATSUSHITA, M. **Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars.** Food Science and Technology, v.33, n.2, p.339-344, June 2013

PARK, J.H., LEE, Y.J., KIM, Y.H., YOON, K.S. **Antioxidant and antimicrobial activities of Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) seeds cultivated in Korea**. Preventive Nutrition and Food Science, v.22, n.3, p.195-202, Sept. 2017

PÁSKO, P., BARTON, H., ZAGRODZKI, P., IZEWSKA, A., KROSNIAK, M., GAWLIK, M., GAWLIK, M., GORINSTEIN, S. **Effect of diet supplemented with quinoa seeds on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats**. Plants Foods for Human Nutrition, v.65, n.2, p.146-151, Apr. 2010

PELLEGRINI, M., LUCAS-GONZALES, R., RICCI, A., FONTECHA, J., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., PÉREZ-ÁLVAREZ, J., VIUDA-MARTOS, M. **Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (Chenopodium quinoa Willd) seeds.** Industrial Crops & Products, v.111, p.38-46, Jan. 2018

PINELI, L., BOTELHO, R.B.A., ZANDONADI, R.P., SOLORZANO, J.L., OLIVEIRA, G.T., REIS, C., TEIXEIRA, D. **Low glycemic index and increased protein content in a novel quinoa milk.** Food Science and Technology, v.63, n.2, p.1261-1267, Oct. 2015

POPOVA, A., MIHAYLOVA, D. **Antinutrients in Plant-based Foods: A Review.** The Open Biotechnology Journal, v.13, 68-76, June 2019

RAHIMI, A., ARSLAN, N., REZAEIEH, K., GURBUZ, B. **Variation in fatty acid composition of registered poppy (Papaver sumniferum L.) seed in Turkey.** European Online Journal of Natural and Social Sciences, v.9, n.3, p.22-25, June 2011

RAUT, J.S., KARUPPAYIL, S.M. **A status review on the medicinal properties of essential oils.** Industrial Crops and Products, v.62, p.250-264, Sept. 2014

REGUERA, M., CONESA, C.M., GIL-GÓMEZ, A., HAROS, C.M., PÉREZ-CASAS, M.A., BRIONES-LABARCA, V., BOLAÑOS, L., BONILLA, I., ÁLVAREZ, R., PINTO, K., MUJICA, A., BASCUÑÁN-GODOY, L. **The impact of different agroecological conditions on the nutritional composition of quinoa seeds**. PeerJ, v.14, n.6, e4442, Mar. 2018

REN, G., ZHU, Y., SHI, Z., LI, J. **Detection of lunasin in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) and the in vitro evaluation of its antioxidant and anti-inflammatory activities**. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.97, n.12, p.4110-4116, Sept. 2017

REPO-CARRASCO-VALENCIA, R., HELLSTRÖM, J., PIHLAVA, J., MATTILA, P. **Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (Chenopodium quinoa), kañiwa (Chenopodium pallidicaule) and kiwicha (Amaranthus caudatus).** Food Chemistry, v.120, n.1, p.128-133, May 2010

REYES-DÍAZ, A., DEL-TORO-SÁNCHEZ, C., RODRÍGUEZ-FIGUEROA, J., VALDÉZ-HURTADO, S., WONG-CORRAL, F., BORBOA-FLORES, J., GONZÁLEZ-OSUNA, M., PEREZ-PEREZ, L., GONZÁLEZ-VEGA, R. **Legume proteins as a promising source of anti-inflammatory peptides.** Current Protein and Peptide Science, v.20, n.12, p.1204-1217, Dec. 2019

RIBEIRO, P., ANDRADE, P., HERMSDORFF, H., DOS SANTOS, C., COTTA, R., ESTANISLAU, J., CAMPOS, A., ROSA, C. **Dietary non-nutrients in the prevention of non-communicable diseases: Potentially related mechanisms**. Nutrition, v.66, p.22-28, Oct. 2019

ROMERO-CORTES, T., LOPEZ-PEREZ, P., TOLEDO, A., PEREZ-ESPANA, V., APARICIO-BURGOS, J., CUERVO-PARRA, J.A. **Nutrigenomics and Nutrigenetics in Functional Foods.** International Journal of Bio-resource and Stress Management, v.9, n.6, p.661-672, Nov. 2018

RUIZ, K.B., KHAKIMOV, B., ENGELSEN, S.B., BAK, S., BIONDI, S., JACOBSEN, S.E. **Quinoa seed coats as an expanding and sustainable source of bioactive compounds: An investigation of genotypic diversity in saponin profiles**. Industrial Crops and Products, v.104, p.156-163, Oct. 2017

SANTINI, A., NOVELLINO, E. **Nutraceuticals: Shedding light on the grey area between pharmaceuticals and food.** Expert Review of Clinical Pharmacology, v.11, n.6, p.545-547, June 2018

SANTINI, A., TENORE, G., NOVELLINO, E. **Nutraceuticals: A paradigm of proactive medicine.** European Journal of Pharmaceutical Sciences, v.96, p.53-61, Jan. 2017

SATURNI, L, FERRETTI, G, BACCHETTI T. **The gluten-free diet: safety and nutritional quality**. Nutrients, v.2, n.1, p.16-34, Jan. 2010

SHETGE, S.A., DZAKOVICH, M.P., COOPERSTONE, J.L., KLEINMEIER, D., REDAN, B.W. **Concentrations of the opium alkaloids morphine, codeine, and thebaine in poppy seeds are reduced after thermal and washing treatments but are not affected when incorporated in a model baked product.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.68, n.18, p.5241-5248, May 2020

SIENER, R., HÖNOW, R., SEIDLER, A., VOSS, S., HESSE, A. **Oxalate contents of species of Polygonaceae, Amaranthaceae and Chenopodiaceae families.** Food Chemistry, v.98, n.2, p.220-224, Dec. 2006

SILVA, J.A., POMPEU, A., COSTA, O., GONÇALVES, D., SPEHAR, C., MARANGONI, S., GRANJEIRO P. **The Importance of heat against antinutritional factors from Chenopodium quinoa seeds**. Food Science and Technology, v.35, n.1, p.74-82, Mar. 2015

SINGH, S., SINGH, R., SINGH KV. **Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.), functional superfood for today´s world: a review**. World Scientifc News, v.58, p.84-96, Oct. 2016

SKOPIKOVA, M., HASHIMOTO, M., RICHOMME, P., SCHINKOVIT, A. **Matrix-free laser desorption ionization mass spectrometry as an efficient tool for the rapid detection of opiates in crude extracts of Papaver somniferum**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.68, n.3, p.884-891, Jan. 2020

SOUSA, C., MOUTINHO, C., VINHA, A.F., MATOS, C. **Trace minerals in human health: iron, zinc, copper, manganese and fluorine.** International Journal of Social Research Methodology - Human, v.13, n.3, p.57-80, Sept. 2019

SOUZA, N., BAPTISTELLA, A., PASCHOAL, V., NAVES, A., MASSUNAGA, N., CARNAUBA, R., HUBSCHER, G. **Nutrição funcional: princípios e aplicação na prática clínica**. Acta Portuguesa de Nutrição, v.6, p.34-39, Dez. 2016

SPYRES, M.B., VAN WIJK, X.R., LAPOINT, J., LEVINE, M. **Two cases of severe opiate toxicity after ingestion of poppy seed tea.** Toxicology. Communications, v.2, p.102-104, Nov. 2018

SUÁREZ-ESTRELLA, D., TORRI, L., PAGANI, M., MARTI, A. **Quinoa bitterness: causes and solutions for improving product acceptability.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v.98, n.11, p.4033-4041, Aug. 2018

TANG, Y., LI, X., ZHANG, B., CHEN, P.X., LIU, R., TSAO, R. **Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three Chenopodium quinoa Willd. genotypes.** Food Chemistry, v.166, p.380-388, Jan. 2015

TANG, Y., TSAO, R. **Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory, and potential health beneficial effects: A review**. Molecular Nutrition & Food Research, v.61, n.7, e1600767, July 2017

THEVIS, M., OPFERMANN, G., SCHIINZER, W. **Urinary concentrations of morphine and codeine after consumption of poppy seeds.** Journal of Analytical Toxicology, v.27, p.53-56, Jan.-Feb. 2003

TRAFKOWSKI, J., MADEA, B., MUSSHOFF, F. **The significance of putative urinary markers of illicit heroin use after consumption of poppy seed products**. Therapeutic Drug Monitoring, v.28, n.4, 552-558, Aug. 2006

TYSOE, C., WILLIAMS, L.K., KEYZERS, R., NGUYEN, N.T., TARLING, C., WICKI, J., GODDARD-BORGER, E.D., AGUDA, A.H., PERRY, S., FOSTER, L.J., ANDERSEN, R.J., BRAYER, G.D., WITHERS, S.G. **Potent human α-amylase inhibition by the β-defensin-like protein helianthamide.** ACS Central Science, v.2, n.3, p.154-161, Feb. 2016

UEMURA, T., TAKAHASHI, N., GOTO, S., LIN, S., UEMURA, T., YU, R., KAWADA, T. **Functional food targeting the regulation of obesity-induced inflammatory responses and pathologies.** Mediators of Inflammation, 2010, v. 2010, 367838, May 2010

UJIROGHENE, O., LIU, L., ZHANG, S., JING, L., LIU, L., PANG, X., JIAPING, L. **Bioactive assessment of the antioxidative and antidiabetic activities of oleanane triterpenoid isolates of sprouted quinoa yoghurt beverages and their anti-angiogenic effects on HUVECs line.** Journal of Functional Foods, v.66, 103779, Mar. 2020

USDA. **Agricultural Statistics Annual**. National Agricultural Statistics Service Information, 2017. Disponível em: https://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2017/index.php. Acesso em: 30 março 2019

VEGA-GÁLVEZ, A., MIRANDA, M., VERGARA, J., URIBE, E., PUENTE, L., MARTÍNEZ, E. **Nutrition facts and functional potential of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.), an ancient Andean grain. A review.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v.90, n.15, p. 2541-2547, Dec. 2010

VIEIRA, E.C. **Alimentos funcionais: [revisão] / Functional foods: [review]**. Revista Médica de Minas Gerais, v.13, n.4, p.260-262, out.-dez. 2003. Disponível em: rmmg.org/artigo/detalhes/1532. Acesso em: 13 abril 2021

VIEIRA, A.C.P., CORNÉLIO, A., SALGADO, J. **Alimentos funcionais: aspectos relevantes para o consumidor**. Jul 2006. Disponível em: https://jus.com.br/artigos/8702/alimentos-funcionais. Acesso em: 13 abril 2021

ZAFAR, M., PING, Q. **Consumers' attitude and preferences of functional food: a qualitative case study.** Pakistan Journal of Agricultural Sciences, v.57, n.1, p.9-16, 2020. Disponível em: https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20193511897. Acesso em: 13 abril 2021

ZEYNEP, A., ÖZLEM, C., ERGUN, K. **Effects of blueberry, grape seed powder and poppy seed incorporation on physicochemical and sensory properties of biscuit.** Journal of Food Quality, v.38, n.3, p.164-174, Mar. 2015

ZEVALLOS, V.F., HERENCIA, I.L., CHANG, F., DONNELLY, S., ELLIS, H., CICLITIRA, P. **Gastrointestinal effects of eating quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) in celiac patients**. The American Journal of Gastroenterology, v.109, n.2, p.270-278, Feb. 2014

# CAPÍTULO 7

# PROCESSAMENTO DE RIZÓFOROS COMO ESTRATÉGIA PARA O FOMENTO DO CULTIVO ECONÔMICO DE CARÁ-DE-ESPINHO (*Dioscorea chondrocarpa* GRISEB. - DIOSCOREACEAE)

*Data de aceite: 01/08/2021*
*Data de submissão: 19/04/2021*

**Eleano Rodrigues da Silva**
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM-CMZL)
MANAUS – AMAZONAS
https://orcid.org/0000-0003-1769-1517

**Ana Paula Mileo Guerra Carvalho**
IFAM-CMZL
MANAUS – AMAZONAS
https://orcid.org/0000-0003-0631-621X

**Sheila Barros Cabral de Araújo**
IFAM-CMZL
MANAUS – AMAZONAS
https://orcid.org/0000-0003-4704-9912

**Flávia de Carvalho Paiva Dias**
IFAM-CMZL
MANAUS – AMAZONAS
https://orcid.org/0000-0003-3810-0456

**Sonia Sena Alfaia**
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)
MANAUS - AMAZONAS
https://orcid.org/0000-0001-9975-6673

**Robert Corrêa Rodrigues**
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
MANAUS – AMAZONAS
https://orcid.org/0000-0001-8054-0469

**RESUMO:** o cará-de-espinho, apesar da alta produtividade de rizóforos, não apresenta propriedades organolépticas para ser utilizado como cará-de-mesa, principal fator que contribui para que não haja cultivo econômico. Além disso, por conta da isoporização, apresenta sazonalidade. Assim, necessita de técnicas de beneficiamento para melhor aproveitamento e conservação dos rizóforos durante o período de entressafra. Dessa forma, esse trabalho objetivou desenvolver, testar e aplicar técnicas de beneficiamento dos rizóforos para melhor aproveitar, agregar valor e disponibilizar os produtos que possam contribuir para fomentar o cultivo econômico de cará-de-espinho. Assim, definiu-se 4 etapas, principalmente, de processamentos, visando resolver os problemas relacionados com o descasque dos rizóforos; desenvolver um produto básico; armazenar os rizóforos minimamente processados; elaborar e avaliar pratos culinários. Os resultados mostraram que o cozimento com casca, assim como o uso de luvas durante a manipulação dos rizóforos, foram suficientes para evitar os problemas com urticária nos manipuladores durante o descasque, evitar a perda de qualidade da polpa, facilitou o descasque, diminuiu a perda de polpa. O produto básico desenvolvido foi denominado de massa universal (MU), pelo fato de que, a partir dela se produziram todos os pratos desenvolvidos pelo Projeto C.A.RÁ. O escondidinho de carne-de-sol apresentou 100% de aprovação e liderou o *ranking* dos pratos, seguido do bobó de camarão, creme de bacalhau, *consommé* e caldo verde. A qualidade dos pratos fez com que, em 2012, fosse sugerido o pagamento de mais de R$ 5,00 por kg. Os rizóforos cozidos e a MU, após congelamento, mantiveram a qualidade dos pratos em todas as amostras avaliadas, durante

12 meses, contribuindo para evitar a falta do produto no mercado devido à sazonalidade.

**PALAVRAS - CHAVE:** Cará gigante, tubérculo, culinária, conservação de alimentos, estrutura subterrânea.

## RHIZOPHORE PROCESSING AS A STRATEGY FOR ECONOMIC CULTIVATION OF DUNGUEY *(Dioscorea chondrocarpa* GRISEB. - DIOSCOREACEAE)

**ABSTRACT:** dunguey has high productivity of rhizophores; nevertheless, it does not have organoleptic properties for consumption as table yam, the main hindrance for its cultivation at an economic scale. In addition, the isoporization causes seasonality to the plantation. Thus, processing techniques for better use and conservation of rhizophores during the off-season are needed. This work aimed to develop, test, and apply rhizophore processing techniques to better use, add value, and make products available to promote the economic cultivation of dunguey. For that purpose, four stages were defined, mainly processing stages, to solve problems related to the peeling of rhizophores, develop a base product, store rhizophores minimally processed, as well as elaborate and evaluate culinary dishes. The results show that the cooking with peel, as well as the use of gloves during the handling of rhizophores, were sufficient to prevent problems with hives to peelers in the peeling process, avoid pulp quality loss, facilitate peeling, and decrease pulp loss. The base product developed was called "universal dough", as it was used to create all the dishes of the C.A.RÁ Project. The dish with sun-dried meat showed 100% approval and topped the ranking of dishes, followed by shrimp stew, codfish cream, *consommé*, and green broth. The quality of the dishes meant that, in 2012, the payment of more than R$ 5.00/kg of rhizophores was suggested. After freezing, both the cooked rhizophores and universal dough kept the quality of the dishes in all samples evaluated for 12 months, which may contribute to supplying the product to the market in the seasonality period.

**KEYWORDS:** giant yam, tuber, culinary, conservation of food, underground structure.

## 1 I INTRODUÇÃO

Espécies de *Dioscorea* spp. podem ser encontradas no Sudeste Asiático, Ilhas do Pacífico, África e América do Sul, como plantas comerciais, medicinais e comestíveis, que têm sido utilizadas como alimento básico para mais de 100 milhões de pessoas nos trópicos úmidos e subúmidos (Laws, 2013). No Brasil, os estados com os maiores consumos, *per capita* / ano, de cará são Pernambuco (0,689 kg), Ceará (0,255 kg) e Amazonas (0,218 kg) (POF, 2020).

Algumas espécies de *Dioscorea* spp. chegam a produzir mais de 100 kg de rizóforos / cova / 18 meses (Silva *et al*., 2013). Além disso, fora observado, que os rizóforos cortados, lavados e mantidos em ambiente seco e protegido da luz solar, mantem a viabilidade, para o consumo e, ou, plantio, por até 120 dias (Silva *et al*., 2013). Essas características são interessantes quando comparados com as raízes de mandioca, que são altamente perecíveis, devendo ser processada, em no máximo 48 h após a colheita, sob pena de

acentuada perda de qualidade, comprometendo a aceitabilidade e, consequentemente, renda com a comercialização *in natura*, em se tratando de mandioca-mansa, e das propriedades físico-químicas para o processamento de subprodutos (farinhas, polvilhos, beijus), no caso da mandioca-brava (Viana *et al*. 2011).

Os rizóforos de cará-de-espinho são comestíveis (USDA, 1978; Pedralli, 2002; Kinupp e Lorenzi, 2014) e, estima-se que a produção de rizóforos alcance de 200 a 300 t / ha / 18 meses (Silva *et al*., 2013), podendo render de 180 a 270 t de rizóforos comestíveis, pois, normalmente, ocorre perda em torno de 10 % do peso total dos rizóforos (Silva *et al*., 2016a).

Diferentemente do cará-roxo (*Dioscorea trifida* L.f.), que é uma das estruturas subterrâneas nativas mais conhecidas e apreciadas na Amazônia, que fica pronto para o consumo após o cozimento com água e sal (Kinupp & Lorenzi, 2014), o cará-de-espinho não é considerado um cará-de-mesa, o que contribui, negativamente, para a sua comercialização e, consequentemente, o seu não cultivo. No entanto, pode-se fazer uso de técnicas agroindustriais que permitam seu processamento, estimulando o seu cultivo e comercialização.

A agroindustrialização tem contribuído para ampliar a renda das propriedades rurais, principalmente, dos agricultores familiares no Espirito Santo, em Brasília e por todo o Brasil, agregando valor aos produtos agropecuários e acesso ao mercado (Dias & Vinha, 2015; IPEA, 2013; Prezzoto, 2013).

Estudos sobre a farinha e o amido de rizóforos de cará-de-espinho mostraram a presença de prebióticos na farinha (Teixeira *et al*., 2016), e o amido apresentou resultados promissores tanto pelo rendimento quanto pela qualidade, sugerindo a utilização nas industrias de embalagens e alimentos (Silva *et al*., 2019).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver, testar e aplicar técnicas de beneficiamento de rizóforos para melhor aproveitar, agregar valor e disponibilizar os produtos, que possam contribuir para fomentar o cultivo econômico de cará-de-espinho.

## 2 | METODOLOGIA

Os rizóforos utilizados foram produzidos no setor de fitotecnia (UEP de Agricultura), localizado nas coordenadas 03º 04’ 53,1” S e 059º 56’ 02,9” W, e selecionados e processados no laboratório de agroindústria do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Manaus Zona Leste (IFAM-CMZL).

Os rizóforos selecionados foram higienizados, lavados com água corrente e escova, e sanitizados em solução clorada a 150 ppm por 10 minutos (Coelho, 2014). Em seguida, seccionaram-se os rizóforos e separam-se os pedaços em tipos, haja vista o tipo 3, de acordo com Dias & Silva (2021) e Paiva-Dias *et al*. (2016), não ser recomendado para consumo humano, por conta do sabor amargo. Por conta disso, todos os trabalhos com os

rizóforos de cará-de-espinho foram realizados com os tipo 1 e 2 (Figura 1 A a C).

As técnicas de beneficiamento foram processadas, visando o desenvolvimento de produtos a partir dos rizóforos de cará-de-espinho. Esses processos foram realizados em 4 etapas:

Etapa 1 – objetivou-se resolver os problemas relacionados com o descasque dos rizóforos;

Etapa 2 – procurou-se o desenvolvimento de um produto base;

Etapa 3 – visou-se a elaboração e avaliação de pratos culinários;

Etapa 4 – estudou-se o armazenamento dos rizóforos minimamente processados.




Figura 1 A a C – Partes dos Rizóforos seccionados para avaliação de palatabilidade. A) Tipo 3 – Inapropriado para o consumo, sabor amargo, porém é a melhor parte para propagação; B) Tipo 2 – Parte boa para consumo; C) Tipo 1 – Melhor parte para consumo, todavia, para propagação, apresenta brotação mais demorada.

Na etapa 1, para o beneficiamento dos rizóforos de cará-de-espinho, nos primeiros trabalhos, com utilização de luvas, os rizóforos foram lavados, fragmentados e descascados, para posterior cozimento. Nos trabalhos posteriores, com utilização de luvas, os rizóforos foram lavados, higienizados, fragmentados e cozidos para posterior descasque.

Na etapa 2, o cará-de-espinho foi processado em liquidificador industrial com leite integral líquido, na proporção de 1:1, a fim de obter o produto base das elaborações culinárias desenvolvidas pelo Projeto C.A.RÁ (Criando Alternativas Rápidas) do IFAM-CMZL.

Na etapa 3, a massa universal (MU) foi utilizada na elaboração de 5 formulações (pratos culinários): escondidinho de carne-de-sol, *consommé*, bobó de camarão, caldo verde e creme de bacalhau.

Os pratos foram elaborados com os seguintes ingredientes: alho; azeite de oliva; bacon; banana pacovan; carne-de-sol; cebola; creme de leite; leite de coco; leite; manteiga; músculo de pirarucu salgado e seco; paio; pimenta-de-cheiro; pimentão amarelo; pimentão verde; pimentão vermelho; queijo coalho; rizóforos de cará-de-espinho; salsinha.

As degustações foram realizadas em Manaus – AM (5 degustações), uma em

Belém – PA e outra em Piracicaba – SP, em duas, em Manaus, fizeram-se avaliações sobre Os pratos culinários foram avaliados quanto a aceitação e interesse de compra do cará-de-espinho (Quadro 1 e Quadro 2). Os dados obtidos foram tabulados e processados, formando um *ranking* dos pratos.

| PRATOS CULINÁRIOS | | | | INTENSÃO DE AQUISIÇÃO | |
|---|---|---|---|---|---|
| *CONSOMMÉ* | | ESCONDIDINHO | | COMPRARIAS? | |
| Ruim | | Ruim | | Sim | |
| Boa | | Bom | | Não | |
| Muito boa | | Muito bom | | Até quanto pagarias por kg? | |
| Excelente | | Excelente | | R$ | |
| Observação: | | | | | |

Quadro 1 – Avaliação de aprovação conceitual de pratos culinários à base de rizóforos de cará-de-espinho.

| PRATOS CULINÁRIOS | NOTAS | | |
|---|---|---|---|
| | 5 | 7 | 10 |
| Bobó de camarão | | | |
| Caldo verde | | | |
| Consommé | | | |
| Creme de bacalhau | | | |
| Escondidinho | | | |
| Observação: | | | |

Quadro 2 – Avaliação de aprovação conceitual de pratos culinários à base de rizóforos de cará-de-espinho.

Os dados obtidos foram tabulados e processados, formando um *ranking* dos pratos.

Na etapa 4, após higienização, sanitização e secção, os rizóforos de cará-de-espinho foram cozidos. Depois, separados em dois lotes de amostras. Sendo o Lote 1 composto por pedaços de rizóforos cozidos e embalados em sacos plásticos na quantidade de 1 kg/saco, e o Lote 2 consistiu embalar 1 kg de  MU em sacos plásticos. Os dois lotes foram submetidos ao congelamento rápido durante 12 meses, a cada 30 dias, dois sacos de cada lote foram retirados do freezer para as devidas avaliações.

## 3 I  RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Etapa 1

Os rizóforos de cará-de-espinho quando lesionados, quer seja por algum baque ou pelo processo de secção, exsudam mucilagem. As substâncias contidas no exsudado são urticantes (Edeoga & Okoli, 1995).

Por conta disso, foi necessário aplicar um método que diminuísse a exposição das pessoas ao exsudado, que ocorria com maior intensidade no momento de limpeza e descasque dos rizóforos. Quando se descascava os rizóforos de cará-de-espinho, antes do cozimento, mesmo com o uso de luvas apropriadas, ocorria incomodo aos manipuladores causando urticária nas mãos e antebraços. Porém, o descasque dos rizóforos, após o cozimento e com utilização de luvas, foi eficaz para evitar os problemas com urticária nos manipuladores. Além disso, não houve perda da quantidade e qualidade da polpa e facilitou o descasque, visto que a película do rizóforos de cará-de-espinho é fina, quando comparada com a da mandioca, soltando-se mais facilmente do rizóforo cozido do que quando cru.

O cozimento dos alimentos, bem como outras técnicas de processamentos, pode alterar o nível e, ou, a natureza química das substâncias presente nos alimentos, produzindo uma diminuição dos níveis de resíduos e contaminantes contidos nos alimentos, diminuindo a exposição e risco. Há algumas exceções, uma delas é quando a degradação da substância leva a um composto mais tóxico que o original (Jardim & Caldas, 2009).

Laws (2013) afirma que quando os rizóforos de algumas Dioscoreaceae são fervidos, cozidos, assados ou fritos, ocorre à inativação de substâncias tóxicas, como a dioscorina.

### Etapa 2

O produto base desenvolvido foi uma massa semelhante a um purê, sendo denominado de massa universal (MU) e utilizado nas formulações desenvolvidas neste estudo. Na África Ocidental, existe a massa nutritiva foo-foo, feita com rizóforos de Dioscoreaceae descascados, cozidos e triturados (Laws, 2013). Cassilhas (2019) descreve o foo-foo ou fufu como sendo uma comida feita em diversas regiões do continente africano com inhames amassados, podendo ter como base outros ingredientes, como a banana da terra e mandioca.

### Etapa 3

Dos pratos culinários elaboradas com a MU e ingredientes específicos para cada formulação, os dois primeiros foram o *consommé* e o escondidinho de carne-de-sol (Figura 2), que foram avaliados durante o *I Seminário de Experiência Agroecológicas no Contexto Amazônico*, ocorrido na Universidade Federal do Amazonas em 2012 (Avaliação 1). Mediante a significativa aprovação dos pratos, outros eventos foram realizados e, novos pratos foram criados, como: bobó de camarão, caldo verde, creme de bacalhau, totalizando 5 pratos, que foram degustados no IFAM-CMZL em 2014 (Avaliação 2) (Figura 2 e Figura 3).

Na avaliação 1, o resultado da degustação mostrou que 52 % avaliaram o *consommé* como EXCELENTE, 26 % como MUITO BOM, 19 % como BOM e 3 % como RUIM. Perfazendo um total de 97 % de aprovação e 78 % de aprovação como um prato de qualidade (excelente + muito bom), enquanto o escondidinho foi avaliado como

EXCELENTE por 59 % dos degustadores, 35 % como MUITO BOM e 6 % como BOM. Perfazendo um total de 100 % de aprovação, ressalvando que com 94 % de aprovação como um prato de qualidade (excelente + muito bom). Alguns fizeram observações dizendo que o escondidinho era um prato “fora do comum”. A intenção de compra de rizóforos de cará-de-espinho alcançou 95 % e, 89 % desses, disseram que o comprariam com o valor médio de R$ 5,28 por kg.

Na avaliação 2, foram postos 5 pratos para degustação, o *ranking* de aprovação dos pratos, foi o seguinte: escondidinho de carne-de-sol > bobó de camarão > creme de bacalhau > *consommé* > caldo verde, com as respectivas notas, 10; 9,55; 8,6; 7,65 e 6,75.

Numa degustação em Piracicaba – SP, embora não tenha sido avaliado, foi apresentado um novo prato o “escondidinho amazônico”, que teve uma boa aceitação. Esse prato é uma versão do escondidinho de carne-de-sol, no qual a carne foi substituída por músculo salgado e seco de pirarucu (*Arapaima gigas* (Schinz, 1822)). Nessa degustação ficou evidente, que o *consommé* obteve maior aprovação. Dessa forma, têm-se trabalhado com esses 3 pratos, escondidinho de carne-de-sol, *consommé* e escondidinho amazônico (Figura 2).

## Etapa 4

Foram estudadas técnicas de armazenamento dos rizóforos minimamente processados. Depois de colhido e lavado, os rizóforos podem ser seccionados e armazenados em ambiente seco, ventilado e protegido da luz solar, por pelos menos 120 dias. Entretanto, faz-se necessário separar as partes, pois a Tipo 3, brota bem mais rápido que as outras partes, além disso, não se recomenda esse tipo para o consumo humano. A partir de 2 meses, percebe-se uma acentuada perda de peso dos rizóforos armazenados, podendo comprometer as propriedades organolépticas, contudo, não compromete o uso para propagação.




Figura 2 A a C – Principais pratos elaborados com os rizóforos de cará-de-espinho. A) Escondidinho de carne-de-sol; B) *Consommé*; C) Escondidinho amazônico.




Figura 3 A a C – Diferentes pratos elaborados com os rizóforos de cará-de-espinho. A) Bobó de camarão; B) Caldo verde; C) Creme de bacalhau.

Devido o cará-de-espinho apresentar isoporização, de causas ainda não elucidadas, sua produção é sazonal (Silva *et al.* 2016b), portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas que permitam armazenar os rizóforos por um tempo igual ou maior que o da sazonalidade.

Dessa forma, após cozimento, prepararam-se dois lotes de amostras. Sendo o Lote 1 composto por pedaços de rizóforos cozidos e embalados em sacos plásticos na quantidade de 1 kg por saco, o Lote 2, consistiu em preparar a MU e embala-la em sacos plásticos na quantidade de 1 kg por saco. Tanto o Lote 1 quanto o Lote 2 foram submetidos ao congelamento rápido. Durante 12 meses, a cada 30 dias, dois sacos de cada lote foram retirados do freezer para as devidas avaliações.

Os dados expuseram que as amostras de rizóforos cozidos e a MU, após congelamento, mantiveram a qualidade dos pratos em todas as avaliações, contribuindo para evitar a falta do produto no mercado devido à sazonalidade.

Rinaldi *et al.* (2015), estudando algumas cultivares de mandioca, no Distrito Federal, determinou que as raízes de mandioca, minimamente processadas, apresentam maior vida útil quando submetidas e mantidas sob congelamento.

Existe no mercado a mandioca descascada, cozida a vapor e embalada a vácuo, com vida-de-prateleira, a temperatura ambiente, de até 6 meses. A deterioração das raízes cruas é retardada pela refrigeração e congelamento. Entretanto, o cozimento, por inativar as enzimas, paralisa a deterioração das raízes (Oliveira, 2021).

## 4 I CONCLUSÃO

A técnica de cozimento dos rizóforos antes do descasque, facilita o trabalho, aumentam o rendimento de polpa e evita os problemas com urticária durante a manipulação dos rizóforos crus.

A massa universal foi o principal produto desenvolvido, pois a partir dela se produzem todos os outros pratos. Embora o *ranking* dos pratos tenha sido escondidinho de carne-de-sol, *consommé* e escondidinho amazônico, esse *ranking* pode sofrer alterações,

principalmente, levando em consideração a região do Brasil onde sejam realizadas as avaliações das degustações.

Tanto os rizóforos cozidos quanto à massa universal, devidamente embalados em sacos plásticos e congelados em freezer, demonstraram ser eficientes formas de armazenamento dos rizóforos, por 12 meses.

Específicos trabalhos de elaborações de pratos e de degustações devem ser realizados, em diferentes regiões do Brasil com diferentes classes sociais para a obtenção de uma avaliação mais ampla e elucidativa.

## AGRADECIMENTO

Ao IFAM-CMZL, pela oportunidade e pelas instalações; ao Dr. José Eurico Ramos de Souza e Me. Domingos Rodrigues Barros, pelas contribuições.

## REFERÊNCIAS

CASSILHAS, F. H. M. **Tradução de histórias do Sul da Nigéria: por uma consciência da tradução-contação na voz de uma bixa preta transviada no Brasil**. Tese, Programa de Pós-Graduação em Estudos da Tradução, Centro de Comunicação e Expressão, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, Brasil. 258 p, 2019.

COELHO, N. R. A. **Noções de higienização na indústria de alimentos**. Universidade Federal de Pelotas. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA). 2014. Disponível em: https://wp.ufpel.edu.br/mlaura/files/2014/02/Higieneiza%C3%A7%C3%A3o-na-ind%C3%BAstria-de-alimentos.pdf. Acesso: 15/04/2021.

DIAS, F. C. P.; SILVA, E. R. Análise físico-química de cará-de-espinho (Dioscorea chondrocarpa Griseb.) produzido em Manaus. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, p. 3859-3869. 2021.

DIAS, R. Q.; VINHA, M. B. **Agroindustrialização dos produtos da agricultura familiar do Espírito Santo**. Atividades rurais não agrícolas. Relatório da pesquisa. Incaper. Vitória – ES, Brasil. 2015.

EDEOGA, H. O.; OKOLI, B. E. Histochemical studies in the leaves of some Dioscorea L. (Dioscoreaceae) and the taxonomic importance. **Feddes Report 106**, 113-120 p. 1995.

IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada). **O perfil da agroindústria rural no Brasil: uma análise com base nos dados do Censo Agropecuário 2006**. Relatório de pesquisa. Secretaria de Assuntos Estratégicos da Presidência da República, Governo Federal. Brasília – DF, Brasil. 2013.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. Revisão. **Quim. Nova**, vol. 32, no. 7, 1898-1909, 2009.

KINUPP, V.F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo – SP, Brasil. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2014.

LAWS, B. **50 plantas que mudaram o rumo da história** [tradução de Ivo Korytowski]. Rio de Janeiro: Sextante, 224 p. 2013.

OLIVEIRA, M. A. **Conservação pós-colheita de mandioca de mesa.** UNESP - Campus de Botucatu, Centro de Raízes e Amidos Tropicais. Botucatu – SP, Brasil. 2021. Disponível em: https://www.cerat.unesp.br/Home/compendio/palestras/palestra7.pdf. Acesso: 15/04/2021.

PAIVA-DIAS, F. C.; SILVA, E. R.; BARROS, D. R.; KINUPP, V. F. **Composição físico-química de cará-de-espinho (Dioscorea altissima Lam.) produzido no IFAM Campus Manaus Zona Leste**. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016, Gramados - RS. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre - RS: UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

PEDRALLI, G. **Dioscoreaceae e Araceae: aspectos taxonômicos, etnobotânicos e espécies nativas com potencial para melhoramento genético**. Anais: EMEPA-PB, João Pessoa, v. 2, p. 37-54, 2002.

POF (Pesquisa de Orçamentos Familiares). **POF: 2017-2018: análise da segurança alimentar no Brasil**. IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. 2020.

PREZZOTO, L. L. **Agroindústria da agricultura familiar: regularização e acesso ao mercado**. Brasília – DF, Brasil. CONTAG. 60p. 2016.

RINALDI, M. M.; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F. Conservação pós-colheita de diferentes cultivares de mandioca submetidas ao processamento mínimo e congelamento. **Científica**, Jaboticabal, v.43, n.4, p.287-301, 2015.

SILVA, E. R.; BARROS, D. R.; DIAS, F. P.; KINUPP, V. F.; ALFAIA, S. S.; AYRES, M. I. C. **Partes comestíveis e não comestíveis de rizóforos de cará-de-espinho**. Resumos do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e X CIGR Section IV International Technical Symposium. FAURGS. Gramados – RS, Brasil. 2016a.

SILVA, E. R.; BARROS, D. R.; KINUPP, V. F.; ALFAIA, S. S.; AYRES, M. I. C.; COIMBRA, A. B. Isoporização em Cará-de-espinho (Dioscorea altissima Lam.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, p. 1-5, 2016b.

SILVA, E. R.; OLIVEIRA, L. A.; KINUPP, V. F.; ALFAIA, S. S.; AYRES, M. I. C.; BARROS, D. R. Avaliação preliminar do cultivo de Dioscorea altissima Lam. **Cadernos de Agroecologia**. Vol 8, No. 2. 2013.

SILVA, L. S. C.; MARTIM, S. R.; SOUZA, R. A. T.; MACHADO, A. R. G.; TEIXEIRA, L. S.; SOUSA, L. B.; VASCONCELLOS, M. C.; TEIXEIRA, M. F. S. Extração e caracterização de amido de espécies de Dioscorea cultivadas na Amazônia. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. **Ciências Naturais** 14(3): 439-452. 2019.

TEIXEIRA, L S.; MARTIM, S. R.; SILVA, L. S. C.; KINUPP, V. F.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, A. L. F. Efficiency of Amazonian tubers flours in modulating gut microbiota of male rats. **Innovative Food Science & Emerging Technologies,** Volume 38, Part A, 2016.

USDA (United States Department of Agriculture). **Tropical Yams and their potential**. PART 6. Minor Cultivated Dioscorea species, 1978.

VIANA, E. S.; OLIVEIRA, L. A.; SILVA, J. **Processamento mínimo de mandioca**. Circular Técnica 95. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas – BA. 2011.

# CAPÍTULO 8

# PRODUTIVIDADE E PADRÃO COMERCIAL DE CULTIVARES DE MAMOEIROS AVALIADOS NO AMAZONAS

*Data de aceite: 01/08/2021*

**Lucio Pereira Santos**
Pesquisador; Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, Amazonas.

**Enilson de Barros Silva**
Professor; Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e do Mucurí
Diamantina, Minas Gerais

**RESUMO:** Com os objetivos de introduzir, avaliar e identificar cultivares adaptadas às condições de clima e solo do Estado do Amazonas, portadoras de elevado potencial produtivo e de características agronômicas favoráveis à qualidade, para futuras recomendações aos produtores, instalou-se um experimento com quinze cultivares de mamoeiros, espaçamento de 3,5 m x 2,0 m, em blocos casualizados, quatro repetições, unidade experimental de 10 plantas em linha. População de 600 plantas, após sexagem. O preparo da área e os tratos culturais seguiram os recomendados para cultura, e o plantio no campo foi realizado no dia 29/04/2009. Foram avaliadas as características Produtividade Total de Frutos Comerciais, Número Total de Frutos Comerciais, Produção Total de Frutos Não-comerciais e, Número Total de Frutos Não-comerciais. Os dados médios foram submetidos à análise de variância, e as médias das características foram comparadas entre as cultivares por meio do Teste Scott-Knott. Realizaram-se análises de correlação entre as produtividades (pesos) e os números de frutos, para cada uma das duas categorias (comercial e não-comercial). A cultivar Caliman 01 destacou-se entre as quinze cultivares testadas, apresentando a maior produtividade total de frutos comerciais (36,8 t $ha^{-1}$), elevado número de frutos comerciais (65.227 frutos por ha), com produção de peso de frutos não-comerciais intermediário e o mais baixo número de frutos não-comerciais.

**PALAVRAS - CHAVE**: variabilidade genética, qualidade, adaptabilidade, *Carica papaya*.

## PRODUCTIVITY AND COMMERCIAL STANDARD OF CULTIVARS OF MAMOEIROS EVALUATED IN AMAZONAS

**ABSTRACT**: With the objective of introducing, evaluating and identifying cultivars adapted to the climate and soil conditions of the State of Amazonas, carriers of high productive potential and agronomic characteristics favorable to quality, for future recommendations to producers, an experiment was installed with fifteen cultivars of papaya, spacing of 3.5 m x 2.0 m, in randomized blocks, four replicates, experimental unit of 10 plants in line. Population of 600 plants after sexing. The preparation of the area and the cultural treatments followed the recommended for crop, and planting in the field was carried out on 04/29/2009. The characteristics Total Commercial Fruit Yield, Total Number of Commercial Fruits, Total Non-Commercial Fruit Production and Total Number of Non-Commercial Fruits were evaluated. The mean data were submitted to variance analysis, and the mean characteristics were compared between cultivars using the Scott-Knott Test. Correlation analyses were

also performed between the yields (weights) and the numbers of fruits, for each of the two categories (commercial and non-commercial). The cultivar Caliman 01 stood out among the fifteen cultivars tested, presenting the highest total yield of commercial fruits (36.8 t $ha^{-1}$), high number of commercial fruits (65,227 fruits per ha), with intermediate non-commercial fruit weight production and the lowest number of non-commercial fruits.
**KEYWORDS**: genetic variability, quality, adaptability, *Carica papaya*.

## INTRODUÇÃO

A cultura do mamoeiro é revestida de grande importância econômica e social para o Brasil e para diversos outros países, gerando emprego e renda o ano inteiro. Seu consumo em nível mundial vem crescendo, o que tem se constituído em importante oportunidade e fonte de divisas para o Brasil.

Em alguns Estados, tais como Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte, são empregados maiores índices tecnológicos em sua produção.

Por sua vez, as lavouras desta cultura no Amazonas são pouco produtivas, caracterizando-se por ofertarem ao consumidor local um produto de baixa qualidade, com ausência de padrão/uniformidade dos frutos, sazonalidade da oferta, dentre outras limitações de caráter tecnológicos que têm sido responsáveis pelo desabastecimento e pela falta de qualidade do mamão comercializado no mercado amazonense.

Para atingir seu potencial produtivo máximo, o mamoeiro necessita de alguns fatores ambientais, tais como luz, temperatura, substrato (solo), $CO_2$, água e nutrientes. Mas, todos esses recursos precisam estar de forma proporcional e equilibrada, não raro necessitando da intervenção do homem para se promover esse equilíbrio.

E no Amazonas, apesar de termos grande disponibilidade de água de qualidade, luz, temperatura, dentre outros recursos naturais, deparamos também com alguns fatores que poderão se tornar limitantes ao mamoeiro, visto que as condições de temperatura e umidade relativa do Estado, como exemplos, são altamente favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos e insetos-praga, que poderão reduzir drasticamente a produtividade de frutos e a qualidade deles para o mercado consumidor.

Outro fator relevante é que, aparentemente, as flores das cultivares de mamão do grupo varietal “Solo” não toleram temperaturas elevadas do ar, fato que é comum no Estado do Amazonas. Por outro lado, as cultivares do grupo varietal “Formosa” são bastante tolerantes às temperaturas mais elevadas, o que faz delas candidatas com maior potencial de cultivo nas condições climáticas prevalentes neste Estado.

Uma estratégia bastante interessante para se obter sucesso no cultivo do mamoeiro no Amazonas parece ser a utilização de híbridos produzidos entre os grupos varietais Solo e Formosa. Aqui neste trabalho foi avaliado um desses híbridos de grande potencial, a cultivar denominada Calimam 01, também conhecida como Calimosa.

Dentre os diversos fatores envolvidos no crescimento e no desenvolvimento do

mamoeiro destacam-se também os nutrientes que, por possuírem diversas particularidades e inteirações entre si e com o ambiente, merecem um tratamento à parte, considerando que são esses recursos um dos que mais permitem as elevações das produtividades e da qualidade do mamão produzido. Neste particular podemos afirmar que, apesar de os solos do Amazonas apresentar, em quase sua totalidade, fertilidade muita baixa, acidez elevada e concentrações elevadas de alumínio tóxico às plantas, todos esses fatores podem ser corrigidos por meio do manejo adequado, o que abre boas perspectivas para o sucesso do cultivo do mamoeiro no Amazonas, com a possibilidade não apenas de torna-lo produtivo e de qualidade para o abastecimento do mercado local, mas, também, torna-lo competitivo para as exportações interestaduais e até mesmo internacionais.

A cultura do mamoeiro no Amazonas, tradicionalmente, apresenta produtividades extremamente baixas. Pacheco et al. (2006) afirmam que o Amazonas produziu, por 797 produtores, com um módulo médio de 0,81 ha por produtor, 15.504 toneladas de frutos, numa área de 646,5 hectares, com um rendimento médio de 24 t $ha^{-1}$ $ano^{-1}$.

O IBGE (2009) reporta que a quantidade produzida no Amazonas foi de 10.140 toneladas de frutos, numa área colhida de 709 hectares, de uma área total estabelecida de 717 hectares, com uma produtividade de apenas 14,3 t $ha^{-1}$ $ano^{-1}$. Afirma ainda o IBGE que naquele ano o valor da produção foi de R$ 1.566 (mil reais).

Por sua vez, dados do IBGE (2013) relatam uma produção física do Estado de 21.682 toneladas, de uma área colhida de 908 hectares, de um total de 1.017 hectares implantados, com média de produtividade de 23,9 t $ha^{-1}$ $ano^{-1}$, com valor da produção de R$ 38.644 (mil reais).

A baixa produtividade de mamão do Amazonas tem sido apontada como a responsável pela produção de quantidade insuficiente para atender à demanda local, o que causa impacto imediato no mercado, fazendo com que, em grande parte do ano, sua comercialização nas principais redes de supermercados seja praticada a preços superiores às demais regiões produtoras do país. Considerados também fatores desfavoráveis, temos no Amazonas a baixa qualidade do fruto, a ausência de padrão/uniformidade dos frutos, a sazonalidade da oferta, dentre outras limitações de caráter tecnológicos. Todos esses fatores somados contribuem para o desabastecimento e pela falta de qualidade do mamão comercializado no mercado amazonense.

Visando contribuir com alternativas para reverter essa situação, realizou-se este trabalho com o objetivo geral de introduzir, avaliar e identificar cultivares adaptadas às condições de clima e solo do Estado do Amazonas, portadoras de elevado potencial produtivo e de características agronômicas favoráveis à qualidade, para futuras recomendações aos produtores. Nesta etapa, o objetivo específico foi avaliar o comportamento diferencial de quinze cultivares de mamoeiros em relação à produtividade e ao padrão comercial, aferindo as características “peso” e “número” de frutos, discriminando entre frutos comerciais e não-comerciais.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no município de Iranduba/AM, em Latossolo Amarelo argilo-arenoso (Santos et al., 2018). As características químicas do solo coletado e analisado, de acordo com Teixeira et al. (2017), são apresentadas no Quadro 1.

| Prof. | pH[1/] | MO[/2] | P[3/] | K[3/] | Ca[4/] | Mg[4/] | Al[4/] | T[5/] | V[6/] | M[7/] | Fe[3/] | Zn[3/] | Mn[3/] | Cu[3/] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (cm) | | g dm3 | mg dm-3 | | cmolc dm-3 | | | | % | | mg dm-3 | | | |
| 0-20 | 4,91 | 12,75 | 40 | 19 | 0,76 | 0,16 | 0,88 | 6,64 | 14,73 | 47,38 | 166 | 0,92 | 2,27 | 1,07 |
| 20-40 | 4,61 | 2,21 | 12 | 8 | 0,35 | 0,07 | 1,00 | 4,84 | 9,37 | 68,8 | 240 | 0,47 | 1,69 | 0,61 |

Quadro 1. Dados médios observados das características químicas do solo coletado antes da instalação do experimento, no dia 04 de dezembro de 2008.

[1/] $H_2O$ Relação solo:solução 1:2,5; [2/] Matéria orgânica = C (carbono orgânico) x 1,724 - Walkley-Black; **[3/]** Extrator Mehlich 1; [4/] Extrator KCl 1 mol $L^{-1}$; [5/] Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; [6/] Saturação por bases; [7/] Saturação de alumínio.

A altitude da área experimental é de 50 m; latitude de 3º 15’ S; longitude de 60º 20’ W. O clima, segundo a classificação de Köppen, é tropical chuvoso tipo Afi (Antonio, 2005).

Os tratamentos foram constituídos de quinze cultivares de mamão, indicadas no Quadro 3. A cultivar Regina foi selecionada, de forma empírica, por um produtor de Iranduba/AM. As duas cultivares, nomeadas como *Plus Seed* e *Isla,* foram adquiridas no comércio local, em Manaus. As outras doze cultivares foram introduzidas do Estado do Espírito Santo.

O espaçamento adotado foi de 3,5 m x 2,0 m. Delineamento experimental de blocos casualizados. A unidade experimental foi constituída de 10 plantas em linha. A população, de 600 plantas, após sexagem.

Inicialmente, a área foi arada e gradeada e recebeu calagem em área total, com calcário dolomítico (PRNT = 90%) para elevar a soma em bases para 80%, que foi incorporado a cerca de 20 cm de profundidade, com a grade niveladora. Posteriormente, foram abertos sulcos com implemento acoplado ao trator. Nos sulcos foram distribuídos, por metro, 6 litros de esterco-de-aves, 300 gramas de superfosfato simples, 40 gramas de cloreto de potássio. O transplante das mudas para o campo foi realizado no dia 29/04/2009. No dia 12/06/2009 iniciou-se o programa de adubação em cobertura das plantas, seguindo frequência mensal de parcelamentos. No dia 25/07/2009, instalou-se o sistema de irrigação com fitas gotejadoras. Os demais tratos culturais, monitoramento e controle fitossanitário seguiram as recomendações de Martins & Costa (2003) e Noronha et al. (2005).

Foram avaliadas, no período janeiro a junho de 2010, as características Produtividade Total de Frutos Comerciais (PTFC), Número Total de Frutos Comerciais (NTFC); Produção Total de Frutos Não-comerciais (PTFNC) e, Número Total de Frutos Não-comerciais

(NTFNC). Portanto, apenas seis meses de colheitas foram avaliados, por motivos diversos que interferiram na sequência das avaliações de campo do experimento, incluindo índices elevados de mortalidade de plantas em algumas parcelas.

Para as avaliações das quatro características acima citadas, foram coletados, semanalmente, frutos em ponto de colheita, que são aqueles que apresentam estrias ou faixas em sua casca com cerca de 50% de coloração amarela.

Os frutos foram destacados das plantas por meio de torção até a ruptura do pedúnculo.

Foram considerados frutos não-comerciais aqueles com peso abaixo de 350 gramas, com deformações, cascas enrugadas e com manchas, com danos mecânicos e com coloração destoante da variedade.

Os dados médios foram submetidos à análise de variância usando-se o software (Sisvar® software 5.6) (Ferreira, 2011), e as médias das características foram comparadas entre as cultivares por meio do Teste Scott-Knott a 5%. Realizaram-se também, de maneira ampla, as análises das correlações entre as produtividades (pesos) e os números de frutos, para cada uma das duas categorias (comercial e não-comercial).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo de "cultivares", para as quatro características estudadas: "produtividade total de frutos comerciais (PTFC)", "número total de frutos comerciais (NTFC)", "produção total de frutos não-comerciais (PTFNC)", e, "número total de frutos não-comerciais (NTFNC)" ($p < 0,05$).

Os resumos das análises de variância dos dados são apresentados no Quadro 2.

| FV | GL | QM | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | PTFC | NTFC | PTFNC | NTFNC |
| **Bloco** | 3 | 87285929,64 | 417536812,34 | 1971334,51 | 98510070,06 |
| **Cultivar** | 14 | **181669535,16** | **852213075,99** | **4979913,11** | **449999822,76** |
| **Erro** | 42 | 24042045,22 | 152634167,85 | 932302,99 | 25150474,47 |
| **CV (%)** | | 26,35 | 22,77 | 19,11 | 15,59 |
| **Média Geral** | | 18607,01 | 54247,10 | 5052,56 | 32158,08 |

**Quadro 2.** Quadrados médios das variáveis produtividade total de frutos comerciais (**PTFC**), número total de frutos comerciais (**NTFC**), produção total de frutos não-comerciais (**PTFNC**) e, número total de frutos não-comerciais (**NTFNC**), no período **Jan/Jun do ano de 2010,** de quinze cultivares de mamoeiros, com as comparações das médias por meio do Teste Scott-Knott (1974)*, para a fonte de variação cultivar

*: NMS: 0,05. Média harmônica do número de repetições (r): 4

Número de observações: 60 (por análise/avaliação).

Para produtividade total de frutos comerciais (PTFC) (Quadro 3), Caliman 01 se destacou entre todas as demais, apresentando a maior produtividade (36,8 t $ha^{-1}$). Caliman M5 e Sunrise Solo P. K. ficaram em segundo lugar (respectivamente, 25,8 e 24,2 t $ha^{-1}$), não

tendo estas duas diferido significativamente entre sí. Posicionadas em um terceiro grupo, as cultivares Solo BS (20,3 t $ha^{-1}$), Taiwan (19,9 t $ha^{-1}$), Isla (19,3 t $ha^{-1}$), THBGG (18,7 t $ha^{-1}$), Sunrise Solo (18,3 t $ha^{-1}$), Regina (18,2 t $ha^{-1}$) e, Gran Golden (16,5 t $ha^{-1}$), também não diferiram entre sí, ao passo que, em quarto lugar, ficaram as cultivares Diva (14,8 t $ha^{-1}$), Brilhoso (12,1 t $ha^{-1}$), Plus Seed (12 t $ha^{-1}$), Golden (11,5 t $ha^{-1}$) e, BSA (10,7 t $ha^{-1}$), também não tendo diferido entre sí.

Para a característica número total de frutos comerciais (NTFC) (Quadro 3), as cultivares foram enquadradas em apenas dois grupos, quais sejam: a) Caliman 01, Caliman M5, Sunrise Solo P. K., Solo BS, Taiwan, Isla, THBGG, Sunrise Solo, Gran Golden e, Diva, não tendo estas dez diferido entre sí. No segundo grupo, b) Regina, Brilhoso, Plus Seed, Golden e, BSA, também não diferiram entre sí.

| Cultivares de Mamoeiros | PTFC | | NTFC | | PTFNC | | NTFNC | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (t $ha^{-1}$) | % | (NºFrutos) | % | (t./ha) | % | (Nº Frutos) | % |
| Caliman 01 | 36,8 a | 100 | 65.227 a | 78 | 4,7 b | 73 | 15.308 d | 30 |
| Caliman M5 | 25,8 b | 70 | 83.534 a | 100 | 5,7 a | 89 | 34.982 b | 69 |
| Sunrise Solo P. K. | 24,2 b | 66 | 69.572 a | 83 | 5,4 a | 84 | 27.553 c | 54 |
| Solo BS | 20,3 c | 55 | 56.973 a | 68 | 5,0 b | 78 | 26.675 c | 53 |
| Taiwan | 19,9 c | 54 | 63.767 a | 76 | 4,9 b | 76 | 32.961 b | 65 |
| Isla | 19,3 c | 52 | 56.245 a | 67 | 4,8 b | 75 | 27.846 c | 55 |
| THBGG | 18,7 c | 51 | 66.359 a | 79 | 5,8 a | 91 | 41.540 a | 82 |
| Sunrise Solo | 18,3 c | 50 | 55.010 a | 66 | 6,2 a | 97 | 38.759 b | 76 |
| Regina | 18,2 c | 49 | 41.715 b | 50 | 4,5 b | 70 | 24.201 c | 48 |
| Gran Golden | 16,5 c | 45 | 56.116 a | 67 | 6,3 a | 98 | 44.589 a | 88 |
| Diva | 14,8 d | 40 | 53.103 a | 64 | 6,4 a | 100 | 43.925 a | 87 |
| Brilhoso | 12,1 d | 33 | 31.980 b | 38 | 2,7 c | 42 | 18.356 d | 36 |
| Plus Seed | 12,0 d | 32 | 43.935 b | 53 | 5,9 a | 92 | 50.679 a | 100 |
| Golden | 11,5 d | 31 | 38.373 b | 46 | 4,3 b | 67 | 36.089 b | 71 |
| BSA | 10,7 d | 29 | 31.790 b | 38 | 3,0 c | 47 | 18.903 d | 37 |

**Quadro 3.** Dados médios estimados das características produtividade total de frutos comerciais (PTFC), número total de frutos comerciais (NTFC), produção total de frutos não-comerciais (PTFNC) e, número total de frutos não-comerciais (NTFNC), com seus respectivos percentuais em relação ao maior (100%), de quinze cultivares de mamoeiros, com as comparações das médias por meio do Teste Scott-Knott (1974)*, para a fonte de variação cultivar

*: NMS: 0,05. Média harmônica do número de repetições (r): 4

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre sí em nível de 5%.

Com relação à característica produção total de frutos não-comerciais (PTFNC) (Quadro 3), as cultivares foram estratificadas em três grupos: a) Caliman M5, Sunrise Solo P. K., THBGG, Sunrise Solo, Gran Golden, Diva e, Plus Seed, produziram os maiores pesos de frutos não-comerciais, não tendo diferido entre sí. b) Caliman 01, Solo BS, Taiwan, Isla, Regina e, Golden, ficaram no grupo intermediário, também não tendo diferido entre sí. c) Brilhoso e BSA produziram os menores pesos de frutos não-comerciais, não tendo estas duas cultivares diferido entre sí.

Quanto ao número total de frutos não-comerciais (NTFNC) (Quadro 3), houve uma maior diferenciação entre as cultivares, discriminando-as em quatro grupos: a) THBGG, Gran Golden, Diva e, Plus Seed produziram o maior número de frutos não-comerciais, não tendo estas quatro diferido entre sí. b) Caliman M5, Taiwan, Sanrise Solo e, Golden, ficaram em antipenúltimo lugar, não tendo diferido entre sí. c) Sunrise Solo P. K., Solo BS, Isla e, Regina, ficaram em penúltima posição, não diferindo entre sí. d) Caliman 01, Brilhoso e BSA se posicionaram em último lugar, não tendo diferido entre sí, mostrando ser, em relação a essa característica, superiores às demais, por produzirem pequenas quantidades de frutos não-comerciais. Entretanto, somente a Caliman 01 se destaca aquí, por ter apresentado também os maiores peso e número de frutos comerciais, e também um dos menores pesos de frutos não-comerciais.

| Variável | Variável | Observações | Correlação | T | Significância |
|---|---|---|---|---|---|
| PTFNC | NTFNC | 40 | 0,7490 | 6,9691 | 0,0000 |
| PTFC | NTFC | 40 | 0,8133 | 8,6172 | 0,0000 |

**Quadro 4.** Correlações de Pearson para produtividade e número de frutos (comerciais e não-comerciais)

**Legenda: PTFNC** – Produtividade Total de Frutos Não-Comerciais (kg/ha); **NTFNC** – Número Total de Frutos Não-Comerciais (Unidade/ha); **PTFC** - Produtividade Total de Frutos Comerciais (kg/ha); **NTFC** - Número Total de Frutos Comerciais (Unidade/ha).

No Quadro 4, notamos que a Produtividade Total de Frutos Comerciais (PTFC) apresentou uma correlação de 81,33% com o número Total de Frutos Comerciais (NTFC), ao passo que, no caso dos Frutos Não-Comerciais, essa correlação de número e peso de frutos foi um pouco menor (74,9%). Entretanto, estes valores estão bem próximos, indicando que o número de frutos explica, em média, cerca de 78% da produtividade, aferida por meio do peso das cultivares testadas. No caso dos frutos não-comerciais, a diferença à menor da correlação pode ser explicada pela significativa variação do padrão dos frutos, caracterizados pelo aspecto deformado, evidenciando tamanhos e pesos muito variáveis, bastante divergentes do padrão comercial.

## CONCLUSÕES

A cultivar Caliman 01 se destacou entre as quinze cultivares testadas, apresentando a maior produtividade total de frutos comerciais (36,8 t $ha^{-1}$), elevado número de frutos comerciais, com produção de peso de frutos não-comerciais intermediário e o mais baixo número de frutos não-comerciais.

A cultivar Caliman M5 foi a referência de número total de frutos comerciais (83.534 frutos/ha), representando 100% desta característica positiva.

A cultivar Diva foi a referência de peso total de frutos não-comerciais (6,4 t $ha^{-1}$), representando 100% desta característica indesejada.

A cultivar *Plus Seed* foi a referência de número total de frutos não-comerciais (50.679 frutos/ha), representando 100% desta característica indesejada.

A cultivar Regina (principal adotada pelos produtores do Polo de Iranduba), produziu apenas 49% de peso de frutos de padrão comercial, quando comparada com a melhor cultivar para esta característica, a Caliman 01.

A cultivar Regina produziu apenas 50% do número total de frutos comerciais, quando comparada com a Caliman M5, que foi a maior.

A cultivar Regina exibiu um peso de frutos não-comerciais intermediário, apesar de ter apresentado baixo número de frutos não-comerciais, o equivalente a 48% em relação à cultivar Plus Seed, que foi a utilizada como índice padrão de referência para esta característica (100%).

## REFERÊNCIAS


ANTONIO, I. C. **Boletim agrometeorológico 1998**: Estação Agroclimatológica da Embrapa Amazônia Ocidental, no Km 29 da Rodovia AM 010. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2005. 28 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 42).

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção Agrícola Municipal, Rio de Janeiro, RJ, v. 36, p. 72, 2009. ISSN 1676-9260 (CD-ROM). ISSN 0101-3963 (meio impresso).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção Agrícola Municipal, Rio de Janeiro, RJ, v. 40, p. 79, 2013. ISSN 1676-9260 (CD-ROM). ISSN 0101-3963 (meio impresso).

MARTINS, D. dos S., COSTA, A. de F. S. da. (Eds.) **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, 2003. 497 p.

NORONHA, A. C. S., SANTOS FILHO, H. P., SANCHES, N., LOPES, F. F., OLIVEIRA, A. M. G., SANTOS, M. J. Procedimentos para o monitoramento de pragas em mamoeiro no extremo Sul do Estado da Bahia. In: MARTINS, D. dos S. (org.). Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas para o mamão. Vitória: Incaper, 2005. p. 458-460.

PACHECO, A. da S.; SILVA, R. da V.; SANTOS, U. S. G. dos. **RELATÓRIO DE ATIVIDADES DO IDAM – ANO 2006.** IDAM/AM, Manaus, 2006, 77 p.

SANTOS, H. G., JACOMINE, P. K. R. T., ANJOS, L. H. C., OLIVEIRA, V. A., LUMBRERAS, J. F., COELHO, M. R., CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos** (5ª ed.). Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2018.

TEIXEIRA, P. C., DONAGEMMA, G. K., FONTANA, A., TEIXEIRA, W.G. **Manual de métodos de análise de solo** (3ª ed.). Brasília: Embrapa, 2017.

# CAPÍTULO 9

# UTILIZAÇÃO DE MODELOS NÃO LINEARES NA DESCRIÇÃO DO CRESCIMENTO DE FRUTOS DE MANGA DA VARIEDADE PALMER

*Data de aceite: 01/08/2021*
*Data de submissão: 15/05/2021*

**Felipe Augusto Fernandes**
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Estatística
Lavras – MG
http://lattes.cnpq.br/6108592888118432

**Isolina Aparecida Vilas Bôas**
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Estatística
Lavras – MG
http://lattes.cnpq.br/1066872528899823

**Henrique José de Paula Alves**
Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada
Rio de Janeiro - RJ
http://lattes.cnpq.br/1676599123972157

**Tales Jesus Fernandes**
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Estatística
Lavras - MG
http://lattes.cnpq.br/5327594992892235

**RESUMO:** A manga é uma fruta polposa e apresenta variações que podem influenciar no tamanho, forma, coloração, presença de fibras, aroma e sabor. De origem asiática, ela faz parte do elenco das frutas tropicais de grande importância econômica. O Brasil se destaca como produtor e exportador desta fruta em nível mundial. O desenvolvimento adequado dos frutos da mangueira pode garantir maior produtividade da cultura. O crescimento dos frutos apresenta padrão sigmoidal o qual, pode ser modelado por modelos de regressão não linear. Estes modelos apresentam interpretação prática para os parâmetros e podem ajudar no manejo identificando as diferentes fases fenológicas. O objetivo deste trabalho é ajustar os modelos não lineares de Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy na descrição do crescimento de frutos de manga Palmer. Foi coletado o teor de massa fresca, em gramas (g), aproximadamente cinco dias após a antese e, foi finalizada quando os frutos atingiram o ponto de colheita aos cento e vinte dias, totalizando dezenove épocas de amostragens. As estimativas foram obtidas utilizando o método iterativo de Gauss-Newton e, posteriormente foi realizada a análise de resíduos em nível de 5% de significância, no *software* estatístico R. O método convergiu para todos os modelos, estimando parâmetros significativos. Notou-se que os modelos Gompertz e von Bertalanffy infringiram o pressuposto de homogeneidade da variância, então, neste caso, seria adequado realizar um ajuste ponderando a variância. Já os modelos Brody e Logístico não atenderam o pressuposto de independência, com isso, torna-se necessário o incremento de um parâmetro autorregressivo (AR). Ademais, para a descrição inicial destes dados, observou-se que os modelos Gompertz e von Bertalanffy forneceram ajustes adequados graficamente, ou seja, a curva predita está mais próxima das médias das observações; já o modelo Brody apresentou o pior ajuste gráfico, subestimando o início e superestimando o final do crescimento dos frutos.

**PALAVRAS - CHAVE**: Curvas de crescimento; Manga Palmer; Modelagem.

## USE OF NONLINEAR MODELS IN THE DESCRIPTION OF PALMER VARIETY MANGO FRUIT GROWTH

**ABSTRACT:** Mango is a pulpy fruit and has variations that can influence the size, shape, color, presence of fibers, aroma and flavor. Of Asian origin, it is part of the list of tropical fruits of great economic importance. Brazil stands out as a producer and exporter of this fruit worldwide. The proper development of the mango fruits can guarantee greater productivity of the crop. Fruit growth has a sigmoidal pattern, which can be modeled by non-linear regression models. These models have a practical interpretation for the parameters and can help in the management by identifying the different phenological phases. The objective of this work is to adjust the nonlinear models of Brody, Gompertz, Logístic and von Bertalanffy in describing the growth of Palmer mango fruits. The fresh mass content, in grams (g), was collected approximately five days after anthesis and was completed when the fruits reached the point of harvest at one hundred and twenty days, totaling nineteen sampling periods. The estimates were obtained using the Gauss-Newton iterative method and, subsequently, the residual analysis was performed at a level of 5% of significance, in the statistical software R. The method converged for all models, estimating significant parameters. It was noted that the Gompertz and von Bertalanffy models violated the assumption of homogeneity of variance, so in this case, it would be appropriate to make an adjustment by weighting the variance. The Brody and Logistic models, on the other hand, did not meet the assumption of independence, therefore, it is necessary to increase an autoregressive parameter (AR). Furthermore, for the initial description of these data, it was observed that the Gompertz and von Bertalanffy models provided adequate adjustments graphically, that is, the predicted curve is closer to the mean of the observations; the Brody model presented the worst graphic adjustment, underestimating the beginning and overestimating the end of fruit growth.
**KEYWORDS:** Growth curves; Manga Palmer; Modeling.

## 1 I INTRODUÇÃO

O Brasil é o sétimo maior produtor mundial de manga e em 2019, ano que produziu 1.414.338 milhão de toneladas do fruto, ocupando uma área plantada de 67.328 mil hectares (IBGE, 2020). A manga, além de ser considerada uma fruta deliciosa, possui um impressionante valor nutricional.

Estudos relacionam a manga e seus nutrientes a benefícios para saúde, como a melhoria da imunidade, a saúde digestiva e a visão, fornecendo também um risco menor de certos tipos de câncer (RAMAM, 2018).

Dentre as muitas variedades da manga, destaca-se a variedade Palmer, que vêm se projetando no mercado mundial, devido ao sabor doce e o fruto carnoso e macio, o que a torna uma fruta das mais saborosas. A manga é consumida fresca ou industrializada, na forma de polpa, suco, doce etc. (SEBRAE, 2020).

Os frutos da mangueira apresentam padrão de crescimento sigmoidal, o que é muito

bem descrito por modelos não lineares (MORAIS *et al.,* 2004).

Na literatura são apresentados diferentes modelos não lineares para descrever o crescimento de frutos; a justificativa para o uso desses modelos é a redução de informações de dados em poucos parâmetros e as interpretações biológicas.

Os autores que têm estudado o desenvolvimento dos frutos, observando o padrão de crescimento sigmóide e utilizando modelos de regressão não linear, têm obtido resultados satisfatórios, com boas estimativas de parâmetros, os quais, possuem a grande vantagem de ter interpretação prática, com coco anão verde (PRADO *et al.,* 2013) , caju (MUIANGA *et al.,* 2016), cacau ( MUNIZ *et al.,* 2017), pêra asiática (RIBEIRO *et al.,* 2018a), pequi (RIBEIRO *et al.,* 2018b), morango (DIEL, 2019) e amora preta (SILVA *et al.,*2020).

A estimação de parâmetros em modelos não lineares geralmente é feita ao minimizar a soma de quadrados dos resíduos, obtendo-se um sistema de equações normais (SEN) que exige a utilização de métodos iterativos para sua solução. O método iterativo mais utilizado na literatura é o de Gauss-Newton (PRADO *et al.*, 2013; MUIANGA *et al.*, 2016).

Ao lidar com dados de séries cronológicas, é conveniente que algumas pressuposições sobre o vetor de erros sejam testadas, evitando assim, a obtenção de estimativas viesadas e a subestimação das variâncias dos parâmetros. Ao adicionar a auto correlação residual ao modelo, é possível encontrar estimativas mais precisas para os parâmetros do modelo e ajustes mais eficientes (PRADO *et al.,* 2013).

O objetivo deste trabalho é ajustar os modelos não lineares de Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy na descrição do crescimento de frutos de manga Palmer. Utilizando estimativas obtidas pelo método iterativo de Gauss-Newton e, posteriormente realizar a análise de resíduos ao nível de 5% de significância, no software estatístico R.

## 2 I MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados utilizados para o ajuste dos modelos foram retirados de (SOUZA, 2007), em cujo experimento foi realizado em Janaúba - MG pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Unesp).

O delineamento experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições, em que os tratamentos correspondem às épocas de amostragem das panículas. Cada unidade experimental foi composta por cinco plantas.

Foram selecionadas 25 plantas da variedade durante o florescimento e, 150 panículas foram marcadas com fita de plástico. Em cada planta foram marcadas 6 panículas, padronizadas quanto ao tamanho e vigor. A coleta dos frutos foi realizada aproximadamente 5 dias após a antese, quando atingiram o estádio de chumbinho e finalizou-se quando os frutos atingiram o ponto de colheita, totalizando 19 épocas de amostragens (DIAS *et al.*, 2014).

Aos dados de crescimento dos frutos foram ajustados aos modelos de Brody,

Gompertz, Logístico e von Bertalanffy, descritos pelas seguintes expressões:

$$Y_i = \alpha\left(1 - e^{(k(\beta - x_i))}\right)$$

$$Y_i = \alpha e^{-e^{k(\beta - x_i)}} + \varepsilon_i$$

$$Y_i = \frac{\alpha}{1 + e^{k(\beta - x_i)}} + \varepsilon_i$$

$$Y_i = \alpha\left(1 - \frac{e^{(k(\beta - x_i))}}{3}\right)^3 + \varepsilon_i$$

em que $Y_i$ é o $i$ - *ésimo* valor observado do teor da massa fresca (g); α é o valor assintótico ou o máximo do teor de massa fresca da manga, ou seja, o peso máximo que a fruta atinge; β corresponde a um valor associado ao ponto de inflexão da curva do modelo, onde, o crescimento da fruta atinge a aceleração máxima e logo em seguida desacelera, até atingir uma estabilidade de crescimento em seu valor máximo de α; $k$ é a taxa de maturidade; $x_i$ é o $i$ - *ésimo* dia após a antese e ε é o erro aleatório associado a $i$ - *ésima* observação sendo que, o mesmo deve seguir uma distribuição normal com média zero e variância constante $N$ (0, $\sigma^2$).

Para estimação dos parâmetros dos modelos, foi utilizado o método de mínimos quadrados e como esse método resulta uma solução não explicitada de equações normais não lineares, se faz necessário o uso de algum processo iterativo (SOUZA, 2007).

Para esse estudo foi utilizado o processo iterativo de Gauss-Newton, que é um dos mais utilizados para o estudo em questão (MAZUCHELI; ACHCAR, 2002) e (MISCHAN; PINHO, 2014).

Foram utilizados três testes estatísticos para análise dos resíduos: o Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resíduos; o Breuch-Pagan para analisar a homogeneidade e para verificar a independência residual foi utilizado o teste de Durbin-Waston.

As análises foram feitas utilizando o *software* estatístico R, sendo que, por meio deste, encontra-se a estimação dos parâmetros, análise dos resíduos e a construção de gráficos.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na figura 1 pode-se observar que o crescimento do teor de massa fresca do fruto (TMF) em relação aos dias após a antese (DAA) apresenta um comportamento sigmoidal, o que indica que o uso de um modelo não linear como o Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy, pode se considerar adequado para estudar a descrição do crescimento do fruto de manga Palmer e verificar também o acúmulo máximo do teor de massa fresca.

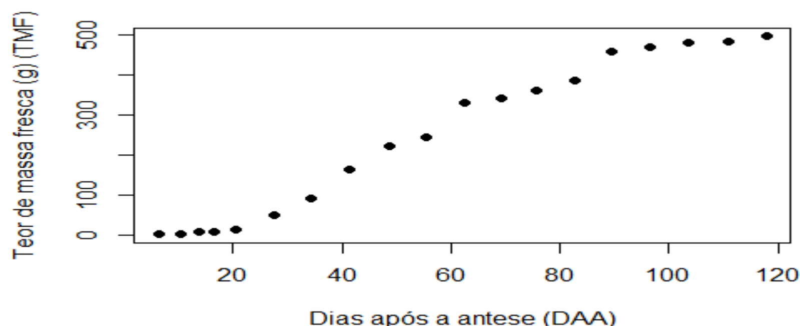



Figura 1: Representação gráfica dos valores médios do teor de massa fresca em relação aos dias após a antese.

Após o ajuste dos modelos Logístico, Gompertz, von Bertalanffy e Brody, para a descrição do teor de massa fresca da manga Palmer considerando que, todas as pressuposições sobre o vetor de erros são aceitas, ou seja, os resíduos são independentes e identicamente distribuídos, seguindo uma distribuição normal com média zero e variância constante. Para isto, foi feita uma análise de resíduos com base nos seguintes testes estatísticos: Shapiro-Wilk (SW), Breush-Pagan (BP) e Durbin-Watson (DW) e utilizou um nível de significância de 5%, a qual pode ser observada na Tabela 1, a seguir:

| **Modelo** | **SW** | **BP** | **DW** |
|---|---|---|---|
| Brody | 0,519 | 0,424 | 0 |
| Gompertz | 0,601 | 0,008 | 0,382 |
| Logístico | 0,685 | 0,201 | 0,002 |
| von Bertalanffy | 0,845 | 0,006 | 0,786 |

Tabela 1: Valores p dos testes Shapiro-Wilk (SW), Breush-Pagan (BP) e Durbin-Watson (DW) utilizados para análise de resíduos dos modelos Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy para o teor de massa fresca (g) da manga Palmer.

De acordo com os resultados dos testes, obtidos na tabela acima, verificou-se que os modelos Gompertz e von Bertalanffy infringiram o pressuposto de homogeneidade da variância, então, neste caso, seria adequado realizar um ajuste ponderando a variância. Já os modelos Brody e Logístico não atenderam o pressuposto de independência, com isso, torna-se necessário o incremento de um parâmetro autorregressivo (AR).

Muianga *et al.,* (2016), observou que os dados de crescimento do fruto do caju se ajustaram de forma satisfatória ao modelo Logístico, no entanto, foi necessário o incremento de uma estrutura autorregressiva da primeira ordem.

Já no trabalho de Silva *et al.*, (2020), necessitou-se de modelos duplo Logístico e o duplo Gompertz para as cultivares de amora preta. Fernandes *et al.*, (2014), verificou que o

modelo de Gompertz ponderando a variância do vetor do erro, foi o que melhor descreveu o crescimento do fruto do cafeeiro em ambas as faces de exposição ao sol.

A Tabela 2, apresenta as estimativas dos parâmetros dos modelos supracitados para a descrição do acúmulo do teor de massa fresca do fruto de manga Palmer. Observando o valor estimado para o peso assintótico representado pelo parâmetro α nota-se que houve uma superestimação ao se utilizar o modelo Brody, sendo que, esta estimativa é muito discrepante às estimativas dos mesmos parâmetros para os demais modelos.

| **Modelo** | **Parâmetros** | | |
|---|---|---|---|
| | $\alpha$ | $\beta$ | $k$ |
| Brody | 1170,679 | 13,335 | 0,006 |
| Gompertz | 521,076 | 47,011 | 0,041 |
| Logístico | 486,993 | 54,996 | 0,069 |
| von Bertalanffy | 545,549 | 42,457 | 0,032 |

Tabela 2: Estimativas e critérios de qualidade de ajuste para os parâmetros dos modelos Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy para o teor de massa fresca (g) do fruto manga Palmer.

Pode-se observar que o modelo Logístico estimou o menor valor para o teor máximo de massa fresca, de acordo com Souza (2007), um fruto de manga Palmer pode atingir 490,57 g, portanto, o modelo Logístico é o que mais se aproxima ao teor de massa fresca encontrado pelo referido autor.

Para as descrições gráficas destes modelos a Figura 2, apresenta os valores observados das médias e a curva ajustada referentes aos dados de acúmulo de massa fresca em frutos de manga Palmer utilizando os modelos Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy. Observa-se que, os modelos Gompertz e von Bertalanffy foram os mais adequados graficamente; já o modelo Brody apresentou o pior ajuste gráfico, subestimando o início e superestimando o final do crescimento de frutos de manga Palmer.

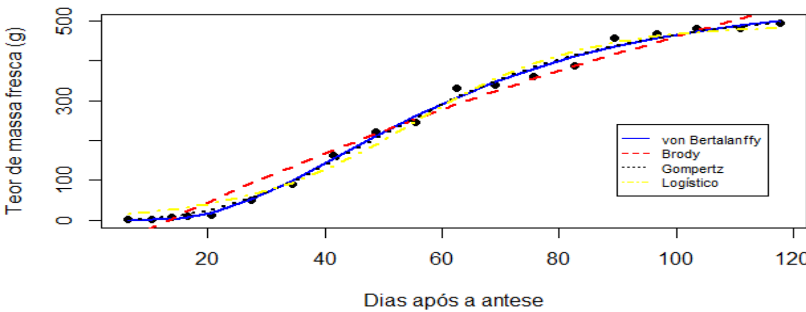



Figura 2: Valores observados e curva ajustada aos dados teor massa fresca(g) do fruto de manga Palmer em relação aos dias após antese utilizando os modelos Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy.

## 4 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os modelos não lineares são adequados para o ajuste do crescimento do teor de massa fresca do fruto de manga Palmer, no entanto, os modelos Brody, Gompertz, Logístico e von Bertalanffy apresentaram pelo menos um desvio nos pressupostos do erro, o quais, devem ser solucionados, para que se possa fazer as devidas inferências sob os parâmetros.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas de estudo para o primeiro e a segunda autor (a).

## REFERÊNCIAS

DIAS, A.; MUNIZ, J.A; SILVA, F. F. e.; SAVIAN, T.V**. Modelos não-lineares aplicados aos dados de crescimento de frutos de mangueira Palmer**. Revista Estatística UFOP**,** Ouro Preto, v.3, p. 634-638, 2014.

DIEL, M.I; SARI, B.G; KRYSCZUN, D.K; OLIVOTO, T.; PINHEIRO, M.V.M; MEIRA, D .; SHIMIDT, D.; LÚCIO, A.D.C. **Regressão não linear para descrição da produção de morango (Fragaria x ananassa)**. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology** , Londres, v.94, n.2, p.259-273, .2019.

FERNANDES, T.J.; PEREIRA, A.A.; MUNIZ, J.A.; SAVIAN, T.V. **Seleção de modelos não lineares para a descrição das curvas de crescimento do fruto do cafeeiro**. Coffee Science, Lavras, v.9, n.2, p.207-2015, 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal. Tabela 1613.** Disponível em: <https://www.ibge.gov.br /estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-cultura-temporarias-e-permanentes.html?=&t=resultados>. Acesso em: 10 maio 2021.

MAZUCHELI, J.; ACHCAR, J. A. **Algumas considerações em regressão não linear**. Acta Scientiarum, v. 24, n. 6, p. 1761-1770, 2002.

MORAIS, P. L. D.; FILGUEIRAS, H. A. C.; PINHO, J.L.N.; ALVES, R.E. **Correlação entre variáveis de crescimento do fruto da mangueira "Tommy Atkins"**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras. v. 28, n. 4, p. 743-747, 2004.

MUIANGA, C.A; MUNIZ, J.A; NASCIMENTO, M.S; FERNANDES, T.J; SAVIAN, T.V. **Descrição da curva de crescimento de frutos do cajueiro por modelos não lineares**. **Revista Brasileira de Fruticultura** , Jaboticabal, v.38, n.1, p.22-32, 2016.

MISCHAN, M.M.; PINHO, S.Z. de**. Modelos não lineares: funções assintóticas de crescimento. São Paulo: Cultura Acadêmica**, 2014. 184p.

MUNIZ, J.A; NASCIMENTO, M.S; FERNANDES, T.J. **Modelos não lineares para descrição de violações das premissas de crescimento do fruto do cacau**. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.30, n.1, p.250-257, 2017.

PRADO, T.K.L. *et al* (b). **Ajuste do modelo logístico na descrição do crescimento de frutos de coqueiro anão por meio de algoritmos iterativos MCMC**. Revista Brasileira de Biometria, v. 31, p. 216-232, 2013.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019. Disponível em: <<http://www.r-project.org&gt>. Acesso em: 10 maio 2021.

RAMAN, R. **Mango: Nutrition, Health Benetfits and How to Eat**. December 17, 2018. Disponível em: <https://www.healthline.com/nutrition/mango>. Acesso em: 10 maio 2021.

RIBEIRO, T.D; MATTOS, R.V.P; MORAIS, A.R; MUNIZ, J.A. **Descrição do crescimento dos frutos do pequi por modelos não lineares**. **Revista Brasileira de Fruticultura** , Jaboticabal, v.40, n.4, 2018b.

RIBEIRO, T.D; SAVIAN, T.V; FERNANDES, T.J; MUNIZ, J.A. **O uso de modelos não lineares no crescimento de pêras de 'Shinseiki'cultivar**. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.48, n.1, 2018a.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado da manga.** Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-manga,90f5438af1c92410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 10 maio 2021.

SILVA, E.M. da *et al*. **Description of blackberry fruit growth by nonlinear regression models**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 42, n.2, e-177, 2020.

SOUZA, F. V. **Curva de crescimento e exportação de nutrientes e sódio por frutos de mangueira Palmer, Haden e Tommy Atkins**. 2007. 54 p., Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

# CAPÍTULO 10

## SEGURANÇA ALIMENTAR E TOXICIDADE PRELIMINAR DO ARAÇÁ AMARELO (*Psidium cattleianum*)

*Data de aceite: 01/08/2021*
*Data de submissão: 07/06/2021*

**Aiane Benevide Sereno**
Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Universidade Federal de Paraná (UFPR).
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/5453503592217809

**Luciana Gibbert**
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/6276422245593612

**Marina Talamini Piltz de Andrade**
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/9523846919843807

**Carla Dayane Pinto**
Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Universidade Federal de Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/0600330801345296

**Michelli Aparecida Bertolazo da Silva**
Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Universidade Federal de Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/7431794903158139

**Josiane de Fátima Gaspari Dias**
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/5611247352060367

**Obdulio Gomes Miguel**
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/6686286192184001

**Cláudia Carneiro Hecke Krüger**
Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição – Universidade Federal do Paraná (UFPR)
Curitiba - Paraná
http://lattes.cnpq.br/4877101247954520

**Iara José de Messias Reason**
Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Universidade Federal de Paraná (UFPR)
Curitiba – Paraná
http://lattes.cnpq.br/0458135694763351

**RESUMO: INTRODUÇÃO:** O araçá amarelo (*Psidium cattleianum*) pertencente à família Myrtaceae, cultivado no bioma da Mata Atlântica, possui relatos de potencial antioxidante, antidiabético, antitumoral, antimicrobiano e anti-inflamatório. Entretanto, até o momento não foram encontradas na literatura informações sobre a existência de toxicidade pelo consumo do fruto. **OBJETIVO:** Avaliar a toxicidade do araçá

amarelo pelo ensaio agudo utilizando-se a *Artemia salina* L. **MATERIAL E MÉTODOS:** A coleta do fruto ocorreu em janeiro de 2018, no Instituto Agronômico do Paraná (25º30'6''S 48º48'5'), no município de Morretes. As amostras foram imersas em solução clorada, lavadas em água corrente e secas em temperatura ambiente. Essas foram congeladas (-20 ºC) e liofilizadas até serem utilizadas. A toxicidade *in vitro* pelo teste de letalidade do microcrustáceo *Artemia salina* seguiu a metodologia de Meyer et al. (1982). Foram preparados extratos etanólicos do fruto (50:50) nas concentrações: 10, 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL em quintuplicata. As análises foram feitas com o teste Probits® e os resultados expressos em DL50 e a regressão linear pelo software SPSS com intervalo de 95% de confiança. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Observou-se ausência de toxicidade da amostra (p=0,207) em relação aos controles: positivo (p=0,898) e negativo (p=0,961). Os resultados indicam segurança do araçá amarelo para uso popular e fins medicinais. **CONCLUSÃO**: O araçá amarelo não apresentou indícios de toxicidade pelo teste com *Artemia salina*, visto que concentrações >1000 µg/mL não causaram mais de 50% de larvas mortas, conforme dose letal média calculada. Os resultados indicam segurança alimentar do araçá amarelo.
**PALAVRAS-CHAVE:** *Psidium cattleianum;* araçá amarelo, toxicidade, *Artemia salina*.

## FOOD SAFETY AND PRELIMINARY TOXICITY OF YELLOW ARAÇÁ (*Psidium cattleianum*)

**ABSTRACT: INTRODUCTION:** Araçá (*Psidium cattleianum*) belongs to the Myrtaceae family, is cultivated in the yellow biome of the Atlantic Forest and has been reported to present antioxidant, antidiabetic, antitumor, antimicrobial and anti-inflammatory potential. However, so far, no information has been found in the literature on the existence of toxicity due to fruit consumption. **OBJECTIVE:** To evaluate the toxicity *in vitro* of araçá by acute assay against *Artemia salina* L. **MATERIAL AND METHODS:** The collection of yellow fruit occurred in January 2018, at the Instituto Agronômico do Paraná (25º30'6''S 48º48'5'), in the municipality of Morretes. The fruits were immersed in a chlorinated solution, rinsed in running water and dried at room temperature. They were frozen (-20°C) and lyophilized. The *in vitro* toxicity of the lethality test by the microcrustacean *Artemia salina* followed the methodology of Meyer et al. (1982). Ethanol extracts of the fruit (50:50) were prepared accordingly: 10, 100, 250, 500, 750 and 1000 µg/mL in quintuplicate. Analyzes were performed using the Probits® program and expressed as DL50 and linear regression using the SPSS software with a 95% confidence interval. **RESULTS AND DISCUSSION:** No sample toxicity was observed (p = 0.207) both in relation to the positive (p = 0.898) and negative (p = 0.961) controls. The results indicated the safety of the yellow araçá for popular use and for medicinal purposes. **CONCLUSION:** The present study investigated the safety of the yellow araçá, demonstrating no evidence of toxicity by *Artemia salina* test, with concentrations >1000 *µ*g / mL not causing >50% of dead larvae, according to the updated mean lethal dose. The results indicate good food safety for the yellow araçá.
**KEYWORDS:** *Psidium cattleianum*; yellow araçá, toxicity, brine shrimp.

## 1 I INTRODUÇÃO

O araçá amarelo (*Psidium cattleianum*), pertence à família Myrtaceae, que apresenta ampla variedade frutífera, tais como o jambo (*Syzygium malaccense*), gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa)*, goiaba (*P. guajava* L.), jabuticaba (*Plinia cauliflora*) e pitanga (*Eugenia uniflora*). As espécies de *Psidium* são conhecidas como araçazeiros, com alternância regional no que se refere ao nome popular. A origem "araçá" vem do tupi ara'sa, ou do guarani ara (céu), e aza (olho), que representa fruta com olhos ou olhos do céu (GIBBERT, 2019; FRANZON e SILVA, 2018).

O araçazeiro é um arbusto valorizado por seu valor estético ornamental, atinge altura aproximada de 1,8 a 2,4 m, seus ramos são delgados, lisos e robustos. As folhas possuem características perenes, brilhantes e resistentes semelhantes ao couro. Os frutos são abundantes, de tamanho pequeno com epiderme amarela, polpa com coloração translúcida (FIGURA 1) e sabor doce de acidez moderada. A vantagem deste arbusto é ser adaptável a diversos climas, nativo do território brasileiro, distribuído em matas e pequenos pomares. É facilmente encontrado desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, desenvolvendo-se em áreas úmidas, na Mata Atlântica e alguns países da América do Sul e Central, incluindo as ilhas do Caribe, Bermudas e Bahamas. Ainda pode ser encontrado no território norte americano, em grande parte da Flórida e Califórnia (PATEL, 2012; LORENZI, 2015; KOCH et al., 2021),

Suas árvores crescem exuberantemente na presença de sol e água abundante. No entanto, podem suportar frio em temperatura congelante e escassez de água, tornando-as potencial fonte para cultivo e exploração econômica. Porém, o seu cultivo voltado à prática industrial ainda não é adotado no Brasil (PATEL, 2012; LORENZI, 2015; CAMELATTO et al., 2021).

A fruta madura do araçá é consumida "*in natura*" ou usada para dar sabor a fabricação informal de produtos agroecológicos como geleias, polpas, sorvetes, licores e balas mastigáveis, em pequenas comunidades (HISTER e TEDESCO, 2016; VERGARA et al. 2020). A elaboração de produtos derivados amplia as opções de consumo e comercialização do fruto, além de reduzir o desperdício, possibilitando agregar renda a pequenos produtores locais (KOCHE et al., 2021). Embora a vida de prateleira seja curta, de aproximadamente um a dois dias, sob armazenamento a temperatura ambiente (VANIN, 2020), a elaboração de derivados do araçá pode aumentar sua vida útil por pelo menos um ano (DAMIANI et al., 2012).

O araçá amarelo é reconhecido por sua capacidade antioxidante, alto teor de minerais, vitamina C (92,0 à 111,67 mg.100g$^{-1}$) e compostos fenólicos, com destaque para os teores de ácido gálico e epicatequina (MEDINA et al., 2011; FRANZON e SILVA, 2018). Dentre os minerais, os majoritários incluem o potássio (1300 mg.kg$^{-1}$), seguido de enxofre (200 mg.kg$^{-1}$), cálcio (169 mg.kg$^{-1}$), magnésio (105 mg.kg$^{-1}$), zinco (87 mg.kg$^{-1}$), fósforo (43,5 mg.kg$^{-1}$) e ferro (3,2 mg.kg$^{-1}$) (DAMIANI et al., 2012; DENISE et al., 2020). Além disso, o

fruto apresenta alto teor de fibras, sendo que a cada 100g de araçá corresponde a 20% da recomendação diária de um adulto, com base em uma dieta de até 2000 kcal (CAMELATTO et al., 2021).

Devido suas ricas propriedades nutricionais e à presença de compostos fitoquímicos que podem beneficiar a saúde humana, existe um interesse crescente em ampliar o consumo e aproveitamento integral de frutos nativos como o araçá (PEREIRA et al., 2018). Assim como ocorre com outros frutos da biodiversidade brasileira, suas propriedades nutricionais e terapêuticas devem ser melhor exploradas em futuros estudos. Uma variedade de propriedades biológicas tem sido descrita para o fruto e folhas. O óleo essencial de folhas do araçá amarelo apresentou atividade antifúngica contra *Candida spp*. (BUSO, 2017). Já o extrato etanólico do fruto mostrou capacidade de inibir a enzima α-glicosidase (VINHOLES et al., 2017) e a glicação de proteínas de seus polissacarídeos (YAN et a., 2013), indicando potencial atividade anti-gliceminante e antioxidante, corroborando com essas atividades extremamente importantes no manejo clínico de doenças metabólicas, Cardoso et al., 2017 e Dalla et al 2014, relataram em estudos independentes o efeito hipoglicemiante da suplementação do fruto e do seu extrato e hipocolesterolêmico em ratos *Wistar*. Ainda, outros autores têm demonstrado em diferentes estudos potencial antimicrobiano, analgésico e antiproliferativo de células cancerígenas humanas do extrato do fruto do araçá (MEDINA et al., 2011; ALVARENGA et al., 2013; ZANDONÁ et al., 2020).

Considerando a possibilidade de vasta utilização do araçá e/ou de seus subprodutos tanto como alimento *in natura* ou processado para fins agroindustriais, bem como para finalidades medicinais, torna-se fundamental a investigação da segurança alimentar desse fruto pelo ensaio de toxicidade. O ensaio de letalidade frente à *Artemia salina* L. tem sido uma metodologia utilizada em pesquisas para avaliar níveis de toxicidade de vários tipos de substâncias, incluindo extratos e componentes fitoquímicos isolados de produtos naturais (HIROTA et al., 2012; ALVAREZ-ALARCON et al., 2021). Considerando-se que a segurança de uso do araçá amarelo utilizando o teste de *Artemia salina* ainda não foi descrita, o presente estudo teve como objetivo determinar a toxicidade do extrato etanólico do araçá amarelo frente a esse microcrustáceo, relatando e discutindo os resultados observados.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Material vegetal

O estudo foi de caráter analítico e exploratório. Os frutos de araçá amarelo foram identificados a partir das características taxonômicas descritas na literatura (FIGURA 1) (FRANZON e SILVA, 2018).



**Figura 1.** Características da Planta *Psidium cattleianum* em suas diversas partes

**Fonte:** Adaptado de NAVIE, 2021 e FRANZON e SILVA, 2018.

A coleta dos frutos ocorreu em janeiro de 2018 no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) situado no município de Morretes (coordenadas geográficas 25º30’6’’S 48º48’5’) na Mata Atlântica paranaense (FIGURA 2). O cultivo ocorreu espontaneamente e não utilizou irrigação ou tratamentos fitossanitários, tais como aplicação de agrotóxicos.




**Figura 2 –** Localização geográfica da Mata Atlântica do local de coleta do araçá amarelo no município de Morretes-PR

**Fonte:** Adaptado do Google maps (2021)

Foram selecionados frutos com grau de maturação apropriado ao consumo, apresentando mais de 80% de sua casca com tonalidade amarela; dessa forma,

características do grau de maturação maduro (SERENO et al., 2018) (FIGURA 3).




**Figura 3.** Escala de maturação do araçá amarelo (*Psidium cattleianum*) cultivado na Mata Atlântica do litoral paranaense

**Legenda:** Estudo realizado referente ao araçá da figura D em seu estádio de maturação maduro.

Os frutos foram transportados em caixas isotérmicas (16ºC±2) até o laboratório de análise de alimentos da Universidade Federal do Paraná (UFPR). As amostras foram imersas em solução clorada (hipoclorito de sódio 200 mg. $L^{-1}$) por 15 minutos. Após, foram enxaguadas em água corrente e secas à temperatura ambiente. Na sequência foram congeladas (-20 ºC±2), e liofilizadas (Cperon Freezer Dryer -55ºC®) a –58 ± 2 ° C e 50 ± 10 $\mu$Hg por 72 h. Não houve padronização do tamanho das partículas. Porções de 20 g foram embaladas a vácuo (Jumbo Plus, Selovac, São Paulo, Brasil®) em sacos de polietileno e armazenadas a –18,0 ± 0,5 ° C em freezer convencional até a elaboração da extração.

## 2.2 Avaliação preliminar de toxicidade

A toxicidade preliminar *in vitro* do fruto foi realizada pelo teste agudo proposto por Meyer et al. (1982). Os ovos do microcrustáceo foram eclodidos em solução de água salina (0,0357 g/mL). A esta solução, foi adicionada 200 mg de ovos de *Artemia salina*. O ambiente foi controlado em pH (8-9), temperatura (27°C±3), iluminação 20W), agitação e aeração constantes por 48 horas.

Após a eclosão, dez náuplios foram transferidos para tubos de ensaio e foram adicionadas concentrações crescentes de extratos etanólicos (50:50) de araçá amarelo (10, 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL) sendo o teste realizado em quintuplicata. Cada tubo recebeu 2,5 mL de solução salina e após 24 horas foi realizada a contagem de náuplios mortos e vivos em cada concentração. Como controle negativo utilizou-se água salina

a 0,0357 g/mL e para o controle positivo foi utilizado metanol (PA). Os frascos com as soluções foram colocados em estufa para total eliminação do solvente (metanol). Após total evaporação, os microcrustáceos foram adicionados ao frasco com uma pipeta *Pasteur,* totalizando 10 em cada amostra adicionando salina suficiente para acomodar e visualizar os crustáceos, mantidos a temperatura de 27°C±3. Após 24 horas, observou-se o número de náuplios vivos e mortos, com auxílio de lupa e iluminação incandescente. A amostra foi considerada atóxica quando concentrações maiores que 1000 µg/mL não manifestaram mais de 50% de larvas mortas. Os resultados foram expressos em dose letal média (DL50).

### 2.3 Análise estatística

Para análise estatística se utilizou o teste de Probits com regressão linear pelo software SPSS Statistics®, e intervalo de confiança de 95%.

## 3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram ausência de toxicidade do extrato de araçá nas diferentes concentrações testadas (TABELA 1 e 2). Para uma amostra ser considerada tóxica é necessário que as frações apresentem DL50 <1000 µg/mL. O teste de letalidade utilizado neste trabalho é um teste rápido (24 horas após a aplicação do extrato da planta), de baixo custo e de fácil execução, podendo indicar a segurança de uso da espécie vegetal para fins dietéticos ou medicinais (MEYER et al., 1982).

| | **DL50 (µg/mL)** | **p valor (<0,05)** |
|---|---|---|
| Araçá | >1000 | 0,207 |
| Água salina | >1000 | 0,961 |
| Metanol | 101,42 | 0,898 |

**Tabela 1.** Ensaio agudo de mortalidade de *Artemia salina* e DL50 em relação ao araçá amarelo

DL50: concentração letal 50%.

Além disso, a taxa de mortalidade por concentração foi menor do extrato de araçá em comparativo com o controle positivo (TABELA 2).

| **Fração** | **Mortalidade de *Artemia salina* /Concentração de extrato de araçá (µg/mL)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | [ ] 10 | [ ] 100 | [ ] 250 | [ ] 500 | [ ] 750 | [ ] 1000 |
| Araçá | 3 | 3 | 1 | 1 | 5 | 6 |
| Controle positivo | 5 | 11 | 47 | 50 | 50 | 50 |
| Controle negativo | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |

**Tabela 2.** Taxa de mortalidade de *Artemia salina* por concentração de extrato de araçá após 24 h de exposição

O ensaio preliminar por *Artemia salina* tem sido considerado como método ideal para detecção de compostos fitoquímicos em extratos de plantas, sendo que a toxicidade a este microcrustáceo tem apresentado ainda relação com atividade antitumoral e anti-*Trypanosoma cruzi* (MEYER, 1982; CARDOSO et a., 2013). O jambo-vermelho (*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry), fruto da mesma família (Myrtaceae) e cultivado na mesma região da Mata Atlântica paranaense, apresentou também segurança para o consumo quando testado no ensaio de toxicidade preliminar utilizando o microcrustáceo (GIBBERT et al., 2019).

Diferentes espécies do gênero Myrcia pertencente à família Myrtaceae incluindo o araçá amarelo, têm sido utilizadas na medicina popular especialmente para o tratamento do diabetes (ZIVARPOUR et al., 2021; MACEDO et al., 2021), demostrando assim a relevância de ensaios de toxicidade desse fruto. Essa garantia também foi um dos objetivos do estudo realizado por Junqueira et al. (2011), com o fruto cambuí (*Myrcia hatschbachii* D. Legrand), que além de investigar a atividade inibitória da α-glucosidase e da lipase pancreática no extrato bruto (EBF), também demonstraram ausência de toxicidade preliminar pelo ensaio da *Artemia salina*.

A importância de investigar a toxicidade do araçá é indispensável, pois o efeito da farinha do fruto araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) foi avaliado sobre o perfil lipídico e dano oxidativo no soro e no tecido hepático de ratas com esteatose hepática induzida por dieta hipercolesterolêmica, evidenciando melhora das alterações induzidas pelo quadro de esteatose hepática, com redução da atividade enzimática pelo biomarcador alanina aminotransferase (ALT) (PAULINHO et al., 2015).

Além da utilização terapêutica, a farinha do araçá amarelo pode servir de suplementação alimentar, em formatos de cookies mantendo os compostos bioativos, mesmo após secagem a 75ºC (SANTOS, 2018). A segurança alimentar e nutricional é extremamente relevante no contexto de saúde pública. A comprovação terapêutica de um fruto, pode estar associada não só à sua composição fitoquímica, mas também a sua composição nutricional. Entre os principais nutrientes que caracterizam a qualidade de um alimento, destacam-se a concentração de cinzas, proteínas, fibras, e o baixo teor de lipídeos, notavelmente encontrados no araçá (SERENO et al., 2019) (TABELA 3).

| Composição (unidade de medida) | PEREIRA et al. (2012)[1] | GALHO et al. (2007)[1] | SILVA et al. (2014)[2] |
|---|---|---|---|
| Umidade (g·100g-1) | 83,31 | * | 85,5 |
| Cinzas (g·100g-1) | 0,63 | 0,73 | 5,5 |
| Proteína (g·100g-1) | 4,24 | 3,98 | 6,9 |
| Amido(g·100g-1) | * | 8,92 | * |
| Lipídeos (g·100g-1) | 1,53 | 0,0442 | 1,4 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Carboidratos totais (g·100g-1) | 15,08 | 10,57 | 55,1 |
| Fibras (g·100g-1) | 11,95 | * | 11,95 |
| Calorias (kcal) | * | * | 260,7 |

**TABELA 3.** Composição de frutos de araçá amarelo (*Psidium cattleianum*), observados por diferentes autores das regiões de Pelotas – RS e Paraibuna, SP

* não avaliado; **1** Pelotas – RS; **2** Paraibuna, SP

**Fonte:** Adaptado de Franzon e Silva, 2018.

Considerando-se a riqueza nutricional e medicinal das espécies da biodiversidade brasileira, tanto a busca como o desenvolvimento de alternativas terapêuticas oriundas dessas fontes são primordiais e podem beneficiar no manejo de doenças prevalentes na população (MACEDO et al., 2007).

A Organização Mundial de Saúde, aponta que 91,9% da população mundial utiliza plantas no manejo clínico de doenças crônicas, principalmente do Diabetes Melittus. Além disso, as plantas para fins terapêuticos continuam ocupando destaque no arsenal de escolha medicamentosa, podendo ser o único recurso de muitas comunidades e grupos étnicos. É importante alertar que o consumo de plantas para fins medicinais pode levar a interações concomitantes dos fitoquímicos com o uso de medicamentos, podendo decorrer em reações adversas. Portanto, é necessário considerar os efeitos após a ingestão do alimento na saúde humana, principalmente quando em uso contínuo e excessivo devido potenciais implicações de hepatotoxicidade e a nefrotoxicidade (MACEDO et al., 2007; KLEIN et al., 2020).

Compreender a relevância nutricional e potencial terapêutico do araçá, reforça ainda mais a necessidade de investigação sobre a toxicidade desse fruto. É importante ainda enfatizar que quando um fruto ou seu extrato apresenta toxicidade preliminar pelo microcrustáceo aqui testado, são necessários testes posteriores em modelos animais. Entretanto, visando a redução da experimentação animal, este teste *in vitro* e de fácil execução com *Artemia* salina tornou-se fundamental para verificar toxicidade preliminar e assegurar o consumo e aplicação terapêutica do araçá amarelo.

## 4 I CONCLUSÃO

O araçá amarelo não apresentou toxicidade pelo ensaio agudo de *Artemia salina* L. Desta forma, pode ser usado com segurança na alimentação e obtenção de produtos derivados. Para sua utilização com fins medicinais, se torna necessário realizar ensaios complementares em outros modelos experimentais *in vitro* ou *in vivo*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-ALARCÓN, N. et al. **Zebrafish and Artemia salina in vivo evaluation of the recreational 25C-NBOMe drug demonstrates its high toxicity**. Toxicology Reports, v. 8, p. 315-323, 2021.

ALVARENGA, F. et al. **In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of Psidium cattleianum Sabine.** Journal of Ethnopharmacology, v. 150, n. 1, p. 280-284, 2013.

BUSO-RAMOS, M,M. et al. **Atividade Anti Candida e citotoxicidade do óleo essencial de *Psidium cattleyanum* (araçá-amarelo).** Universidade Estadual de Campinas. Tese de doutorado, 2017.

CARDOSO, J.S. et al. **Antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance Redox Report.** Free Radical Research, p. 1-6, 2017.

DA SILVEIRA CAMELATTO, T. et al. **Germinação de sementes de araçazeiro amarelo do sudeste do Rio Grande do Sul e avaliação de suas progênies.** Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 1, p. 9137-9149, 2021.

DALLA NORA, C. et al. **Flôres Protective effect of guabiju (Myrcianthes pungens (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleyanum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, n. 50, p. 483-491, 2014.

DAMIANI, C. al. **Study of the shelf-life of a mixed araça (Psidium guineensis Sw.) and marolo (*Annona crassiflora* Mart.) jam**. Food Science and Technology, v. 32, n. 2, p. 334-343, 2012.

DE MELO, D.W.; CAVALCANTE, B.D.M.; AMANTE, E.R. **Caracterização do araçá vermelho (*Psidium Cattleianum* Sabine) liofilizado em pó.** Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 5, p. 29868-29875, 2020.

FRANZON, C.R.; SOUZA, S.J.C. ***Psidium* spp (Araçá).** Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Edición 2018.

GALHO, A.S. et al. **"Composição quí - mica e respiração de crescimento em frutos de Psidium Cattleyanum Sabine durante o ciclo de desen - volvimento".** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 61-66, 2007.

GIBBERT, L. et al. **Caracterização físico-química do jambo-vermelho (Syzygium malaccense (L.) Merr. & L.M. Perry) e ensaio preliminar frente à toxicidade.** Capítulo 2. Ciência e Tecnologia dos Alimentos–Volume 2/ Organização Editora Poisson – Belo Horizonte - MG: Poisson - 2019.

HIROTA, B.C.K. et al. **Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à Artemia salina.** Visão Acadêmica, v. 13, n. 2, 2012.

HISTER, C. A. L.; TEDESCO, S. B. **Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração.** Revista brasileira de plantas medicinais, v. 18, n. 1, p. 135-141, 2016.

JUNQUEIRA, G.L. et al. Inibição de α-glucosidase, lipase pancreática e propriedade antioxidante de Myrcia hatschbachii D. Legrand contendo ácidos gálico e elágico. **Boletín Latinoamericano e do Caribe de Plantas Medicinales e Aromáticas**, v. 20, n. 3, 2021.

KLEIN, A.P.S. JUNG, D. **A compra de plantas medicinais em locais inapropriados e despreparados para o acondicionamento e garantia de qualidade.** Anais XI Seminário de Desenvolvimento do Ensino Pesquisa e Extensão, julho de 2020. Volume III. Atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão.

KOCH, S.; FACHINETTO, J.M.; BIANCHI, V. **Distribuição geográfica potencial atual e futura de Araçá (*Psidium Catlleianum*) para a América do Sul.** Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 2, p. 16268-16277, 2021.

LORENZI, H. **Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil:árvores brasileiras (4ª ed.).** São Paulo: Nova Odessa, 2000.

MACEDO, A.F., OSHIIWA, M., GUARIDO, C.F. **Ocorrência do uso de plantas medicinais por moradores de um bairro do município de Marília-SP.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. v. 28, n. 1, p. 123-128, 2007.

MACEDO, J.G.F et al. **Therapeutic indications, chemical composition and biological activity of native Brazilian species from Psidium genus (Myrtaceae): A review.** Journal of Ethnopharmacology, p. 114248, 2021.

MEDINA, A.L. et al. **Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells.** Food Chemistry, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.

MEYER, B; FERRIGNI, N; PUTMAN, J.; JACOBSEN, L.; NICHOLS, David; MCLAUGHLIN**, Nicols. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents.** Planta Med.,45(5), 31-4, 1982.

NAVIE, S. **Fact Sheet** Help. Disponível em: <https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/psidium_cattleianum_var._cattleianum.htm>. Acesso em 03 de junho de 2021.

PAULINO, A.H.S. **Efeito da farinha do fruto araçá (Psidium cattleianum Sabine) sobre o perfil lipídico e o estresse oxidativo na esteatose hepática induzida por dieta hipercolesterolêmica em ratas.** Repositório – UFOP. 2015.

PATERL, S. **Exotic tropical plant Psidium cattleianum: a review on prospects and threats.** Rev Environ Sci Biotechnol, n. 11, p. 243–248, 2012.

PEREIRA, M.C. et al. **“Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family”.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.60, p. 3061-3067, 2012.

PEREIRA, E.S. et al., **Psidium cattleianum fruits: A review on its composition and bioactivity.** Food Chemistry. v. 258, p. 95-103, 2018.

SANTOS, R.F. et al. **Aproveitamento de frutas nativas para elaboração de farinhas e incorporação em biscoitos tipo cookies.** Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018.

SERENO, A.B. et al. **Mineral profile, carotenoids and composition of cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), a wild Brazilian fruit.** Journal of Food Composition and Analysis, v. 72, p. 32-38, 2018.

SILVA, N.A. et al. **Phenolic compounds and carote - noids from four fruits native from the Brazilian Atlantic Forest”.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 62, p. 5072-5084. 2014.

VANIN, C.R. et al. **“Yellow Araçá” flour (*Psidium cattleyanum* cv. Ya-cy) in cereal bars-nutritional and functional potential**. Food Science and Technology, n. AHEAD, 2020.

VERGARA, L.P. et al. **Perfil sensorial de balas mastigáveis convencionais e de reduzido valor calórico formuladas com polpa de Araçá Amarelo.** Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 3, p. 15362-15368, 2020.

VINHOLES, J. et al. **In vitro assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga.** Food bioscience, v. 19, p. 92-100, 2017.

YAN, C. et al. **Anti-glycated activity prediction of polysaccharides from two guava fruits using artificial neural networks.** Carbohydrate polymers, v. 98, n. 1, p. 116-121, 2013.

ZANDONÁ, G.P. et al. **Extraction and characterization of phytochemical compounds from araçazeiro (Psidium cattleianum) leaf: putative antioxidant and antimicrobial properties**. Food Research International, v. 137, p. 109573, 2020.

ZIVARPOUR, **Parinaz et al. Molecular and biological functions of gingerol as a natural effective therapeutic drug for cervical cancer.** Journal of Ovarian Research, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2021.

# CAPÍTULO 11

# DESENVOLVIMENTO E CONTROLE DE QUALIDADE DE PICLES DO PECÍOLO DA VITÓRIA-RÉGIA (POEPP.)

*Data de aceite: 01/08/2021*
*Data de submissão: 19/05/2021*

**Midori Nakamura Marques**
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Programa de pós Graduação em Agricultura do Trópico Úmido ATU
Manaus – Amazonas
http://lattes.cnpq.br/8775218957336414

**Jaime Paiva Lopes Aguiar**
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Laboratório de Físico-Química de Alimentos, LFQA
Manaus – Amazonas
http://lattes.cnpq.br/4626479986355662

**Francisca das Chagas do Amaral Souza**
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Laboratório de Físico-Química de Alimentos, LFQA
Manaus – Amazonas
http://lattes.cnpq.br/4281093837396621

**RESUMO:** A vitória-régia (Victoria amazônica Poepp.) J.E. Sowerby, também é conhecida como Victoria Amazônica, milho-d'água, rainha dos lagos, forno d'água, nampé e jaçanã. É uma herbácea aquática nativa de regiões amazônica em lagos de água parada. O presente trabalho teve por objetivo o aproveitamento tecnológico do pecíolo da vitória-régia na forma de picles. Foram determinados os teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos e fibras (solúveis e insolúveis), além de ácido ascórbico, acidez total titulável (ATT), minerais e cor refletida. Foram elaborados 21 potes de picles. Sete potes de picles sem condimento, 7 com grãos de mostarda e 7 potes com orégano. Foram realizadas três avaliações com 37 provadores não treinados. A primeira para verificar o grau de semelhança geral entre as três amostras de picles de pecíolo de vitória regia (neutro, com orégano e com mostarda) com o picles comercial feito com pepino. A segunda avaliação foi um teste de aceitabilidade. Por último, os participantes responderam o quesito sobre a intensão de compra dos produtos. Por fim, foi realizada a vida de prateleira dos picles a fim de determinar o tempo de vida útil do produto. Ao longo de seis meses foram feitas leituras de sólidos solúveis, pH, determinações médias de acidez e determinações médias de cor. A análise sensorial foi efetuada sob o CEP 2.144.701-INPA. Os três tipos de picles atingiram padrões microbiológicos com ausência de contaminação e valores pH inferiores a 4,5 durante p período de armazenamento. Com relação a avalição sensorial, 62% dos entrevistados disseram gostar extremamente do produto com orégano e 70% dos entrevistados disseram que certamente comprariam o picles com mostarda.
**PALAVRAS - CHAVE:** Picles, vitória-régia, avaliação sensorial, vida de prateleira.

## DEVELOPMENT AND QUALITY CONTROL OF PICKLED VITÓRIA-RÉGIA (POEPP.) PETIOLE

**ABSTRACT:** The vitória-régia (Victoria amazônica Poepp.) J.E. Sowerby, is also known

as Victoria Amazônica, corn water, queen of the lakes, water oven, nampé and jaçanã. It is an aquatic herbaceous native to Amazonian regions in still water lakes. The present work had as objective the technological use of the vitória-régia petiole in the form of pickles. The contents of moisture, ash, lipids, proteins, carbohydrates and fibers (soluble and insoluble), as well as ascorbic acid, total titratable acidity (ATT), minerals and reflected color were determined. 21 pickles were made. Seven jars of pickles without condiment, 7 with mustard grains and 7 jars with oregano. Three evaluations were carried out with 37 untrained tasters. The first to verify the degree of general similarity between the three samples of vitória-régia pickled (neutral, with oregano and mustard) with the commercial pickle made with cucumber. The second assessment was an acceptability test. The participants also answered the question about the intention to purchase the products. Finally, the pickle's shelf life was carried out in order to determine the product's shelf life. Over the course of six months, readings of soluble solids, pH, average acidity determinations and average color determinations were made. Sensory analysis was performed under CEP 2,144,701 INPA. The three types of pickles reached microbiological standards with no contamination and pH values below 4.5 during the storage period. According to sensory evaluation, 62% of the interviewees said they liked extremely the product with oregano and 70% of the interviewees said they would certainly buy the pickle with mustard.
**KEYWORDS:** pickle, water lily, sensory evaluation, shelf life.

## 1 | INTRODUÇÃO

A sigla PANC significa Plantas Alimentícias Não Convencionais. Em outras palavras, quer dizer "todas as plantas que poderíamos consumir, mas não consumimos".

Com a globalização mundial a alimentação humana acabou tornando-se muito homogênea e até monótona. Com isso poucas pessoas têm conhecimento do uso alimentício de espécies de plantas ou partes de plantas que são comuns, abundantes e espontâneas em sua região. O conhecimento do uso não convencional, de plantas abundantes e espontâneas poderia ser mais uma alternativa de renda para a população local. Na contramão da homogeneização alimentar global, vivemos um período promissor de revalorização dos alimentos regionais e naturais e a gastronomia atual tem um grande apelo midiático capaz de transformar PANC em alimentos saudáveis, atraentes e mais disponíveis. Essa transformação do não-convencional em convencional depende do fomento, da questão do manejo sustentável e especialmente da iniciativa de pesquisadores, chefs e empreendedores. A matriz agrícola no Brasil ainda está apoiada na exploração comercial de poucas espécies (SOUZA et al., 2013).

A vitória-régia (Victoria amazonica Poepp.) J.E. Sowerby, também é conhecida como Victoria Amazônica, milho-d'água, rainha dos lagos, forno d'água, nampé e jaçanã. É uma herbácea rizomatosa, aquática, anual, robusta, nativa de regiões amazônica em lagos e lagoas de água parada e rasa. Possui até 24 lâminas circulares de até 2 metros de diâmetro, peltada, flutuante, com margem levantada e coberta de espinhos (KINUPP; LORENZI, 2014).

O presente trabalho teve por objetivo o aproveitamento tecnológico do pecíolo da vitória-régia na forma de picles.

## 2 I MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado como matéria-prima o pecíolo da vitória-régia coletado em águas do entorno da cidade de Manaus e adquirido na feira.

As análises de caraterização de umidade foram determinadas seguindo os métodos oficiais de análise (A.O.A.C., 2005) e IAL para cinzas, lipídeos e proteínas e sólidos solúveis (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

O teor de ferro cobre cálcio, magnésio, zinco, manganês, sódio e potássio foram determinados por espectrometria de absorção atômica (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

As medidas do pH foram obtidas por meio de leitura direta em potenciômetro, da marca microNAL, modelo B474.

A acidez total foi titulada com NaOH 0,1M e fenolftaleína.

Fibras totais foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico.

O teor de ácido ascórbico foi quantificado utilizando a metodologia descrita por OLIVEIRA et al. (2011).

O teor de carboidratos das amostras foi determinado por diferença, subtraindo-se de 100 a somatória dos teores de umidade, proteína, lipídeos e cinzas.

A cor refletida foi determinada por meio de espectrofotômetro da marca UltraScan VIS® da Hunter Lab.

Foi utilizado o fluxograma da Embrapa para o processamento dos picles:




Fluxograma (1) do processamento dos picles (Krolow, 2006)

Foram elaborados 21 potes de picles: 7 sem condimento, 7 com grãos de mostarda e 7 com orégano.



Figura 1. Picles recém produzidos

Fonte: Marques 2018

Foram realizadas análises microbiológicas para coliformes e Salmonella sp. em conformidade com o Manual de Microbiologia de Alimentos da EMBRAPA (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997), e para salmonela foi utilizado um método oficial (A.O.A.C., 2005).

Os ensaios citotóxicos foram realizados com a utilização de ovos de A.salina (MEYER; FERRIGNI; PUTNAM, 1982).

Para a avaliação sensorial foram recrutados 37 provadores não treinados com idades diferentes. Todos receberam as amostras codificadas conforme a figura 2 e foram instruídos quanto à avaliação e o preenchimento das fichas. A identidade dos provadores foi preservada, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado respeitando-se as normas. Essa avaliação foi efetuada sob o CEP 2.144.701- INPA.

Foram realizadas três avaliações, a primeira para verificar o grau de semelhança geral entre as amostras de picles de vitória regia com o picles comercial de pepino, a escala ia de 1 – nenhuma semelhança a 5 – extrema semelhança. A segunda avaliação foi um teste de aceitabilidade. Os provadores responderam um formulário com escala hedônica de nove pontos (9-gostei extremamente, 1-desgostei extremamente) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Por último responderam o quesito sobre a intensão de compra dos produtos com valores que iam de 1- certamente não compraria a 5- certamente compraria.

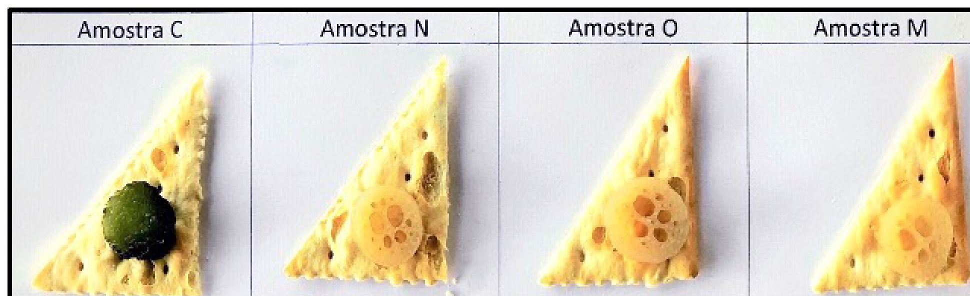



Figura 2. Amostras codificadas para análise sensorial

Fonte: Marques 2019

Por fim, foi feita a vida de prateleira dos picles pra determinar o tempo em que os mesmos podem ser conservados a temperatura ambiente sofrendo apenas pequenas alterações que são consideradas aceitáveis pela legislação alimentar vigente. Ao longo de seis meses foram feitas leituras de sólidos solúveis, pH, determinações médias de acidez e determinações médias de cor.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização físico-química do pecíolo "in natura" é apresentada na tabela 1. Houve significância para o teor de umidade (97, 26%). Os valores encontrados para carboidratos, proteínas, lipídeos, cinzas e fibras, não apresentam significância.

| | |
|---|---|
| Valor energético | 8,6kcal |
| Carboidrato | 0,68% |
| Proteína | 0,97% |
| Lipídeo | 0,24% |
| Umidade | 97,26% |
| Cinzas | 0,85% |
| Fibras totais | 0,00% |
| pH | 5,8 |
| Sólidos solúveis | n.d. |
| Ácido ascórbico | 1,82% |

Tabela 1 Composição físico-química do pecíolo in natura

Os resultados referentes às análises de minerais do pecíolo da vitória-régia demonstram que o pecíolo é uma boa fonte de cálcio, magnésio e potássio e encontram-se na Tabela 2.

| | |
|---|---|
| Ca | 105 |
| Cu | 0,16 |
| Fe | 2,9 |
| Mn | 9,84 |
| Zn | 2,03 |
| Mg | 32,8 |
| K | 150 |
| Na | 4,1 |

Tabela 2 Composição de minerais do pecíolo in natura em mg/100g

Os resultados das análises de sólidos solúveis são apresentados no gráfico 1 e demonstram que houve pouca variação entre o mês 0 e o mês 6.

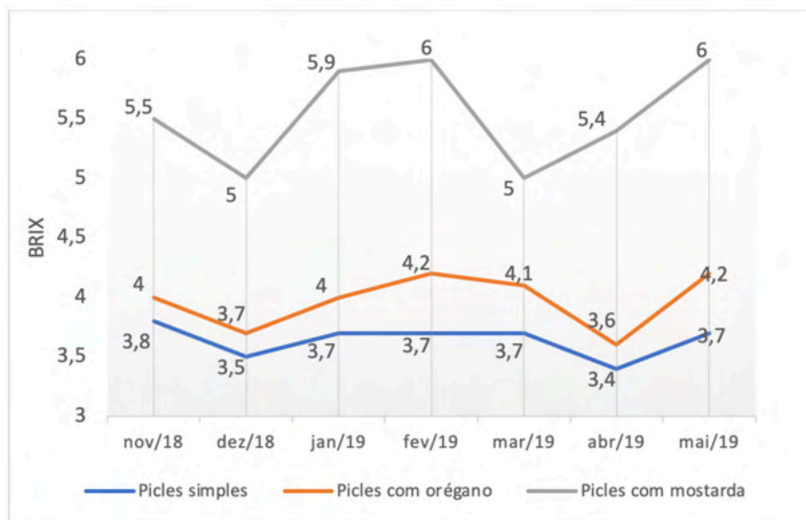



Gráfico1 Comportamento dos sólidos solúveis dos três tipos de picles durante 180 dias demonstrando pouca variação ºBRIX ao longo da vida de prateleira.

No gráfico 2 podemos observar que a acidez dos três tipos de picles se manteve abaixo de 4,5 até o sexto mês, sofrendo o picles de mostarda uma leve alta no segundo mês, seguido de queda.

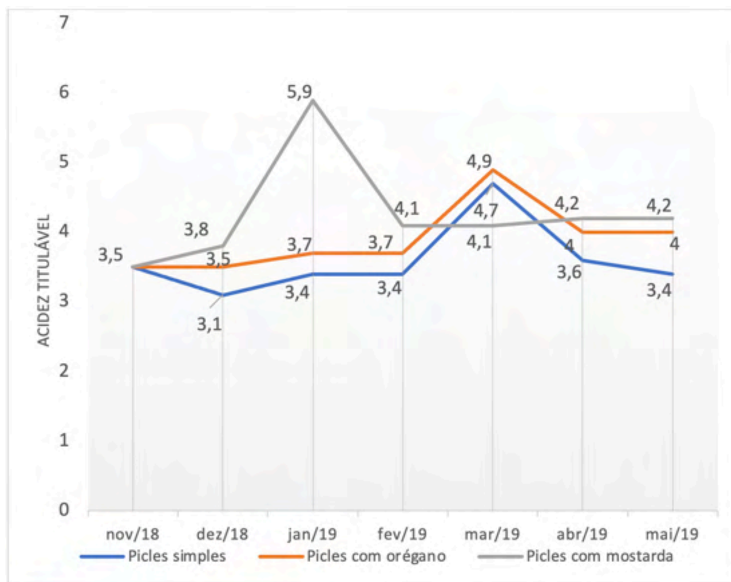



Gráfico 2 Acidez titulável dos três tipos de picles durante 180 dias demonstra maior estabilidade no picles com orégano e com mostarda.

Os valores pH são apresentados no gráfico 3. Os picles atingiram os parâmetros seguros para esse tipo de alimento no mês 0 e 2. Todas as três preparações apresentaram valores inferiores a 4,5 durante este período conforme a Resolução nº 272 de 22 de setembro de 2005 para hortaliças em conserva acidificadas prevê. Entretanto o picles de mostarda a partir do mês 2 apresentou valores acima de 4,4 a partir do segundo mês, resultado da interação do liquido de cobertura com os grãos de mostarda.

Manter valores de pH ácido em picles é um importante parâmetro para impedir o desenvolvimento de micro-organismos. Valores de pH acima de 4,5 apresentam elevado risco o crescimento de microrganismos patogênicos como *Yersinia enterocolítica*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp (M., 2005).

O processamento de conservas acidificadas seguras ao consumo humano requer a aplicação conjunta de procedimentos de tratamento térmico e acidificação. Um procedimento de acidificação bem sucedido deve resultar em um pH no produto abaixo ou igual a 4,5. Quando, durante o processamento dessas conservas, as características do produto permanecem favoráveis ao desenvolvimento do *Clostridium botulinum* , como pH superior a 4,5 e micro ambiente da embalagem anaeróbio, os esporos dessa bactéria termo resistentes ao tratamento térmico aplicado podem se desenvolver para as formas vegetativas e produzirem uma neurotoxina letal que causa a síndrome conhecida como botulismo.

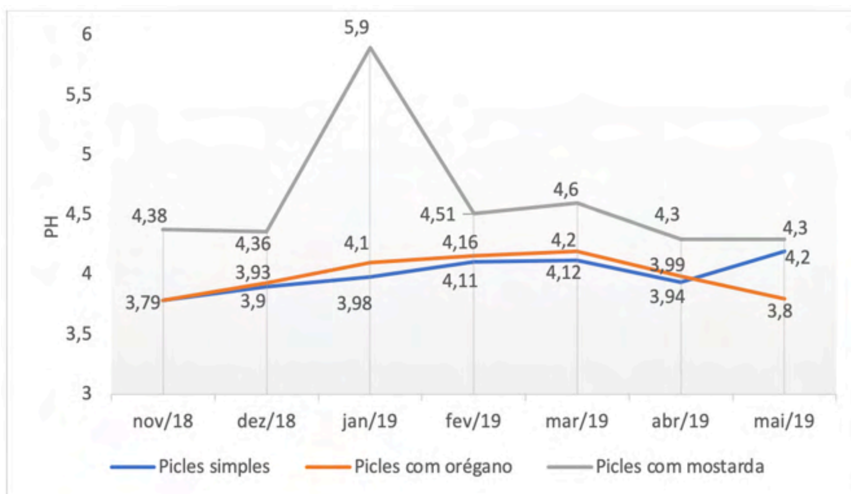



Gráfico 3 pH dos três tipos de picles durante 180 dias demonstram maior estabilidade nos picles com orégano e com mostarda.

Benevides e Furtunato (1998) constataram no desenvolvimento de picles, valores de acidez que tiveram um rápido aumento, seguido de um decréscimo como pode ser observado no gráfico 3.

Nos gráficos 4,5 e 6 podemos perceber que as amostras de picles simples e com mostarda tiveram significativa alteração de cor ao longo de 180 dias à temperatura ambiente. Enquanto o picles com orégano manteve a cor mais estável ao longo da vida de prateleira.




Gráfico 5. Cor do picles com orégano durante 180 dias.

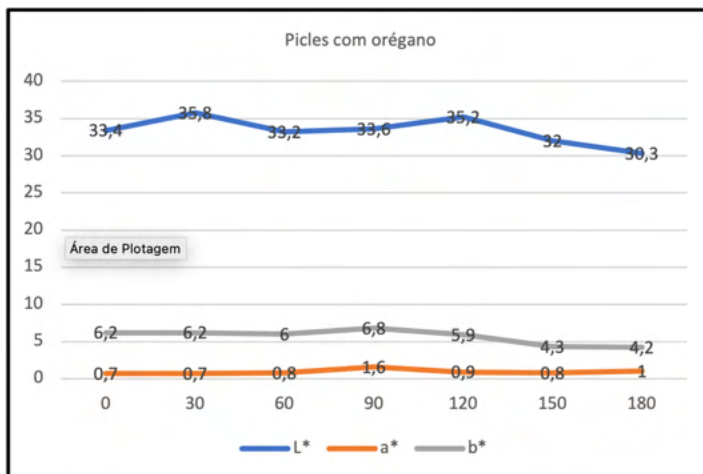



Gráfico 4. Cor do picles simples durante 180 dias.

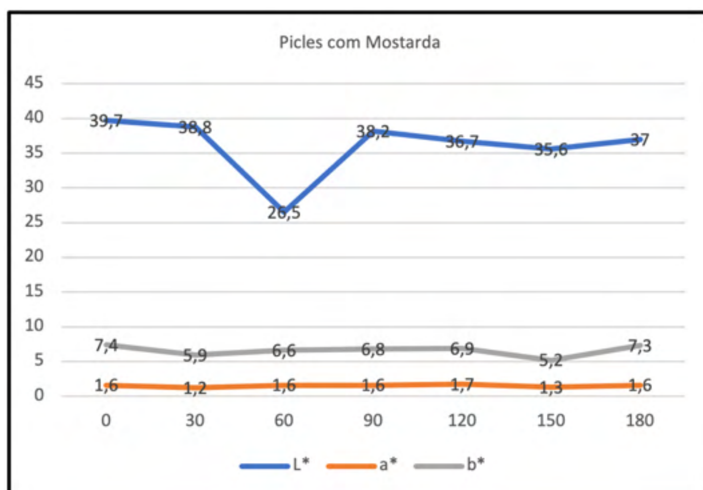



Gráfico 6. Cor do picles com mostarda durante 180 dias

Análise sensorial. Tanto a análise citotóxica quanto a microbiológica, demonstraram resultados satisfatórios, o que possibilitou a realização da análise sensorial. O resultado para Salmonella sp. foi negativo, sendo também obtido por Benevides e Furtunato (1998) em hortaliças acidificas. A segurança microbiológica ainda é garantida pelo tratamento térmico dado ao produto, com o objetivo de eliminar possíveis formas de vida vegetativa remanescentes (DO NASCIMENTO; NUNES; NUNES, 2011). Portanto, os resultados das análises sugerem que as amostras avaliadas no presente estudo estavam dentro dos padrões microbiológicos de qualidade exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Para a avaliação sensorial das amostras dos picles, foram recrutados 37 provadores não treinados com idades diferentes. Quanto aos atributos sensoriais dos três tipos de picles de pecíolo de vitória régia (simples, com orégano e com mostarda) em comparação ao picles de pepino comercial podemos observar na Figura 3 que a maioria dos participantes não achou muita semelhança entre o picles de pecíolo e o picles comercial.

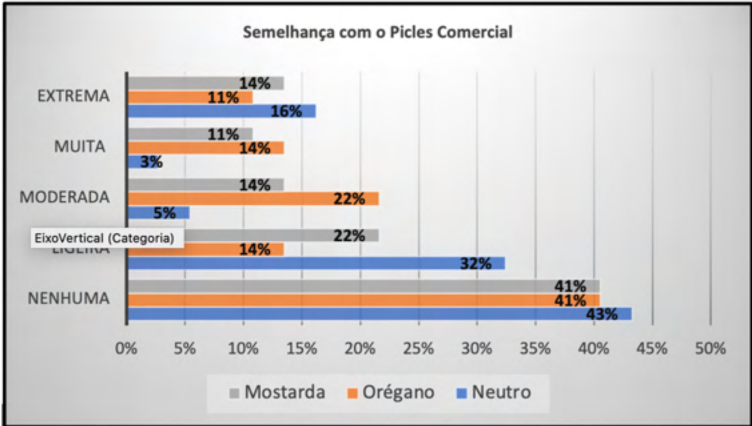



Figura 3. Comparação dos picles de pecíolo de vitória régia com o picles de pepino levando-se em consideração o aspecto geral do produto. Manaus, Amazonas 2018

Com relação ao grau de gostar e não gostar, 62% dos entrevistados disseram ter gostado extremamente do picles de pecíolo temperado com orégano, 46% gostaram extremamente do picles com mostarda e apenas 19% dos entrevistados avaliaram o picles neutro tão positivamente (figura 4).

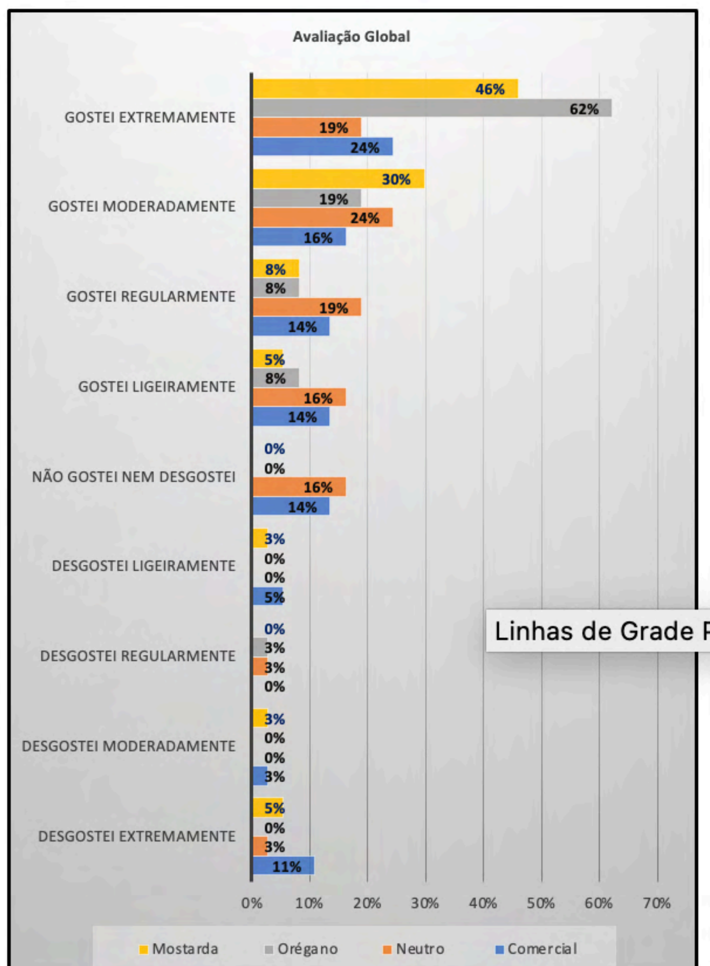



Figura 4. Frequência das respostas do teste da escala hedônica entre os três tipos de picles de pecíolo e o picles comercial de pepino. Manaus, Amazonas 2018

Quanto a intensão de compra 70% dos entrevistados disseram que certamente comprariam o picles com mostarda, 65% certamente comprariam o picles com orégano e 32% afirmaram que compraria o picles de pecíolo sem tempero (figura 5).

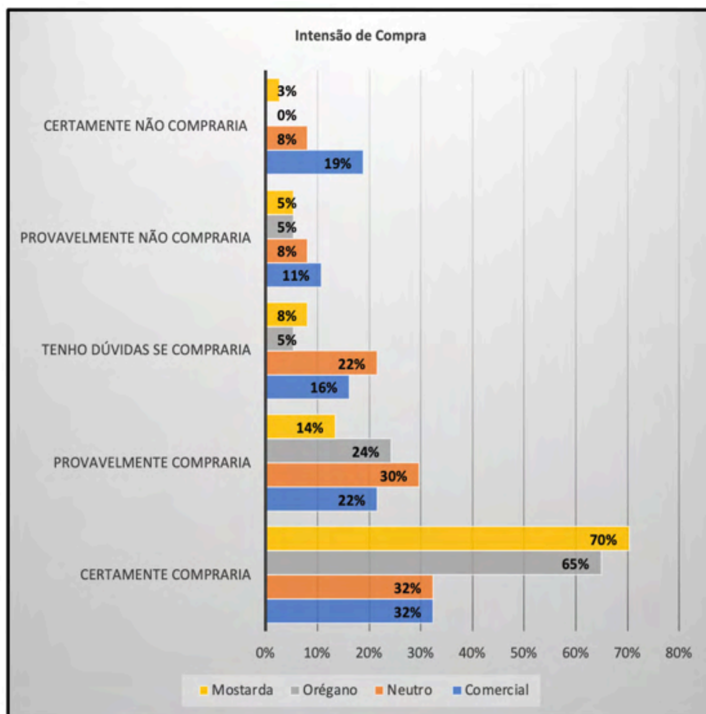



Figura 5. Frequência das respostas do teste de intensão de compra entre os três tipos de picles de pecíolo e o picles comercial de pepino.

## 4 | CONCLUSÃO

Os três tipos de picles mantiveram-se dentro dos padrões microbiológicos de qualidade exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) durante os meses de estocagem à temperatura ambiente e durante 1 ano sob refrigeração.

Com relação as análises de cor ao longo de 180 dias de armazenamento a temperatura ambiente. Pode-se observar menor variação de cor no picles com orégano, sugerindo que o orégano possui qualidades conservantes.

Com relação a avalição sensorial, as melhores pontuações foram para a formulação com orégano, com 62% dos entrevistados dizendo gostar extremamente do produto. Quanto a intensão de compra, o picles que teve melhor aceitação foi o de mostarda com 70% dos entrevistados dizendo que certamente comprariam o mesmo.

## REFERÊNCIAS


A.O.A.C. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005.

BENEVIDES, C. M. DE J.; FURTUNATO, D. M. DA N. HORTALIÇAS ACIDIFICADAS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 271–274, ago. 1998.

DO NASCIMENTO, A. M. D. C. B.; NUNES, R. G. F. L.; NUNES, L. A. P. L. ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO QUÍMICA, BIOLÓGICA E SENSORIAL DE CONSERVA DE MAXIXE (Cucumis anguria L.). **Acta Tecnológica**, v. 6, n. 1, p. 123, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físicos-quimicos para análise de Alimentos 1ª Edição Digital**. 4. ed. São Paulo: SES - CCD -IAL, 2008.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil**. 1st. ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014.

M., J. J. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 1, p. 31–34, 1982.

OLIVEIRA, D. DA S. et al. Vitamina c, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum - Health Sciences**, v. 33, n. 1, p. 89–98, 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. DE A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 1. ed. São Paulo: Embrapa, 1997.

SOUZA, A. DE M. et al. Most consumed foods in Brazil: National dietary survey 2008-2009. **Revista de Saude Publica**, v. 47, n. SUPPL.1, p. 190–199, 2013.

# CAPÍTULO 12

# MYCOTOXINS, A PROBLEMATIC AFFECTING FOOD SAFETY IN FOOD INDUSTRY FOR PETS WORLDWIDE

*Data de aceite: 01/08/2021*
*Data de submissão: 10/05/2021*

**Nadia Boncompagno**
Laboratory analyst - Quality & Food Safety. Royal Canin Argentina S.A (a division of MARS, Inc.) Buenos Aires, Argentina.

**Gianni Galaverna**
Full Professor in the Department of Food and Drug of the Università di Parma (UNIPR), Parma, Italy.

**Andrea Astoreca**
Center for Research and Development in Industrial Fermentations (CINDEFI). Researcher of the National Council of Scientific and Technical Research (CONICET), Faculty of Exacts Science, National University of La Plata.47th and 115th Street (B1900ASH) La Plata, Argentina.

**ABSTRACT:** The feeding of companion animals has some objectives of its own that differentiate it from that of other animals. In addition of providing a correct and balanced amount of nutrients, it should allow them to optimize their health, activity and longevity, since these are often considered as “family members” and are treated as such. Through different investigations it has been shown that the pet food can be contaminated with mycotoxins. These metabolites are produced by different fungal species which contaminate cereals and their derivatives, used as raw materials for the manufacture of these products. This has greatly favoured the risk of poisoning with these substances. Therefore, the pet food industry must ensure that the concentration of mycotoxins in its products remains below the established toxicological limits. It is known that the different stages of the pet food production process, cannot completely inactivate these fungal metabolites, so the best way to avoid contamination with fungal toxins is through prevention, however, it is often insufficient. Several alternatives have been sought to treat the contaminated grain. One of the most promising approaches to solve this problem is the addition of adsorbents materials, such as clay materials, activated carbon and yeast cell wall extracts. It should be noted that all these practices do not replace the need to use high-quality ingredients, from trusted suppliers, with established processing guidelines to avoid the production of mycotoxins.
**KEYWORDS:** pet food, mycotoxins, food safety, raw materials.

## MICOTOXINAS, UM PROBLEMÁTICO QUE AFETA A SEGURANÇA ALIMENTAR NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO EM TODO O MUNDO

**RESUMO:** A alimentação de animais de companhia tem alguns objetivos próprios que a diferenciam da de outros animais. Além de fornecer uma quantidade correta e equilibrada de nutrientes, deve permitir que eles otimizem sua saúde, atividade e longevidade, já que muitas vezes são considerados “membros da família” e são tratados como tal. Por meio de diferentes investigações, foi demonstrado que os alimentos

para animais de estimação podem estar contaminados com micotoxinas. Esses metabólitos são produzidos por diferentes espécies de fungos que contaminam os cereais e seus derivados, utilizados como matéria-prima na fabricação desses produtos. Isso tem favorecido muito o risco de intoxicação por essas substâncias. Portanto, a indústria de alimentos para animais de estimação deve garantir que a concentração de micotoxinas em seus produtos permaneça abaixo dos limites toxicológicos estabelecidos. Sabe-se que as diferentes etapas do processo de produção de rações, não conseguem inativar completamente esses metabólitos fúngicos, portanto a melhor forma de evitar a contaminação com toxinas fúngicas é através da prevenção, porém muitas vezes é insuficiente. Várias alternativas têm sido buscadas para tratar o grão contaminado. Uma das abordagens mais promissoras para resolver este problema é a adição de materiais adsorventes, como materiais argilosos, carvão ativado e extratos de parede celular de levedura. Deve-se observar que todas essas práticas não substituem a necessidade de usar ingredientes de alta qualidade, de fornecedores confiáveis, com diretrizes de processamento estabelecidas para evitar a produção de micotoxinas.
**PALAVRAS - CHAVE:** alimentos para animais de estimação, micotoxinas, segurança alimentar, matérias-primas.

## INTRODUCTION

### History of the dry pet food industry

Humans have fed, domesticated, and adopted dogs and cats for work and/or pleasure for thousands of years. Research mentions that dogs were in the company of humans for more than 30,000 years (Gomez et al. 2007). At beginning, their diet was very similar to that of their owners, and consisted of whatever food they could spare. But over the years, these animals became an integral part of homes, and scientific understanding of pet nutrition and food safety focused on their diet to protect their health. During the new millennium, dry pet food companies have continued to develop specific foods for different life stages, psychological states, and disease states (Arango, 2016).

### World and Latin America market

Pets are part of the family in most homes around the world. More than half of people worldwide have a pet at home (57%), according to a global study conducted by GfK in 2016. Argentina, Mexico and Brazil present the highest rate of pet ownership, among 22 consulted countries, being the dogs the most popular pet in the three nations. Contrary, Asian countries have obtained the lowest percentages in terms of pet ownership (in more than 27,000 people, over 15 years of age, from 22 countries, belonging to the five continents).

Regarding the Latin American market, Brazil is the main producer and consumer in the sector (46%), followed by Mexico (20%) and Argentina (11%).

Despite the economic crises that Argentina has faced cyclically over the years, this topic is in continuous growth. Figure 1 shows the evolution in the sale of dry pet food from 2008 to the present.

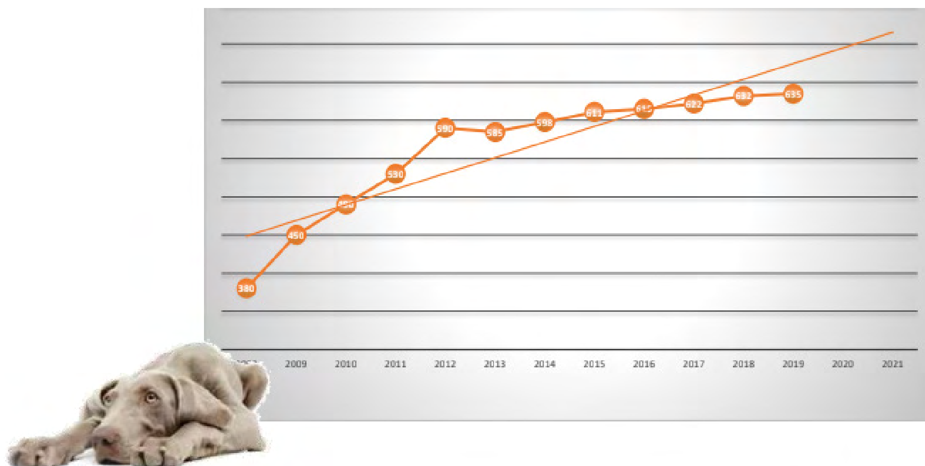



**Figure 1.** Tons of dry pet food sold in the last decade. Source: Argentine Chamber of Animal Nutrition Companies.

In the local market a very wide variety of products formulated according to the following criteria may be found:

- Age range: puppies, juveniles, adults, seniors.
- Breed requirements: size (small, medium, large), special breeds (Sheepdog, French Bulldog, Labrador, etc), activity (sedentary, active), etc.

But, the market segmentation is divided into the following categories based on the quality of the raw materials used in the formulation: Super Premium, Low Premium, Premium, Standard and Economy.

## Technology of the production process during its elaboration

Dry pet foods are considered high fat, low moisture, and low water activity ($a_w$) products. When formulated without humectants or preservatives, these products have an $a_w$ of 0.65 or less, and are generally coated with fat (beef or chicken fat) to improve palatability (Crane et al., 2000). At these low levels of $a_w$, dry pet foods are considered stable to microbial growth (Carrión and Thompson, 2014). However, as the main ingredients that compose it are cereals and their derivatives (corn, soy flour, wheat, rice, corn gluten, etc.) it is necessary to pay special attention to the contaminants that may be introduced into the food. The main risk posed by these ingredients are due to the possible contamination by mycotoxins, a topic that will be developed below.

## Mycotoxins

Mycotoxins are fungal secondary metabolites that cause biochemical, physiological and pathological changes in other species, including animals, plants, microbes and even humans (Pleadin et al., 2019). The disease resulting from exposure to mycotoxins is called “mycotoxicosis”. These metabolites are capable of causing both acute (high dose of

mycotoxin, short-term exposure) and chronic (lower dose of mycotoxin, long-term exposure) toxic effects in humans and animals. Situation is to be considered since pets consume balanced food throughout their lives and these contaminants may cause a wide variety of mutagenic, carcinogenic, teratogenic, dermatotoxic, immunosuppressive, neurotoxic effects, among others, and can even be lethal. The target organs can be liver, kidneys, lungs, central nervous system and immune system. The degree of susceptibility of an organism depends on genus, age, diet, general health, the amount and type of mycotoxin, and the duration of exposure (Kabak et al., 2006; Pleadin et al., 2019).

The contamination of food with filamentous fungi producing mycotoxins and yeasts is the cause of great economic losses in the food industry throughout the world. The most colonized crops around the world are those of rice, corn, wheat, barley, oats, peanuts, cotton seeds and soybeans (Haschek and Voss, 2013).

## Legislation on mycotoxins in dry pet food

Regulations regarding permissible concentrations of mycotoxins in animal feeds focus mainly on farm animals used for food production. While much of what is known about mycotoxins in animals is based on toxicological data demonstrating adverse effects in farm and laboratory animals exposed to naturally occurring concentrations of mycotoxins, there is perhaps even more concern for companion animals who are often maintained and fed for longer periods of time on a homogeneous, grain-containing diet and thus more likely to have chronic exposures to pet foods contaminated with either single mycotoxins, or multiple mycotoxins in various combinations (Böhm et al. 2010). Moreover, none of these studies have investigated the long-term chronic exposures that likely occur if pets are fed a contaminated feed over a typical lifespan (Leung et al. 2006).

More recently, following some scientific opinions provided by the European Food Safety Authority (EFSA), specific “guidance values” recommended for DON, ZEA, OTA, T-2, and HT-2 also referred to the compound feed intended for dogs or cats have been introduced (Grandi et al. 2019).

In Argentina there is no exclusive legislation for food for companion animals, but they are considered within the current regulations of SENASA resolution 594/15 “Technical Standard for Animal Food of the Argentine Republic” (http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-594-2015-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria).

## Mycotoxin reports in dry pet food

In the last 20 years, some monitoring initiatives carried out in different parts of the world have revealed a significant presence of mycotoxins in the pet food samples analyzed. More specifically, the principal mycotoxins investigated were aflatoxins, fumonisins, deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZEA) and ochratoxin A (OTA). Table 1 summarizes the main scientific works reported worldwide with the corresponding highlighted results and authors.

| Location | Samples surveyed | **Analitical methods** | **Quantification limits (LOQs)** | **Mycotoxins detected** | **References** |
|---|---|---|---|---|---|
| Argentine | Raw materials and pelletized ready dog foods samples | HPLC | $AFB_1$: 0.1 $\mu$g/Kg<br>$FB_1$: 0.02 $\mu$g/Kg | $AFB_1$ was detected only in wheat and soybean pelletized | FERNANDEZ JURI et al. 2009a |
| Argentine | 260 samples of extruded commercial dog foods (standard, premium and super premium) | HPLC | $AFB_1$: 0.1 $\mu$g/Kg<br>$FB_1$: 0.02 $\mu$g/Kg | $AFB_1$ was detected in 20 and 40% of premium and super premium puppy food samples, respectively. From 40 to 75% of the samples were contaminated with $FB_1$. | FERNANDEZ JURI et al. 2009b |
| Vienna, Austria | Seventy-six dry dog food samples from 27 producers | ELISA Kit | AFs: 1 $\mu$g/kg<br>OTA: 2 $\mu$g/kg<br>FUM: 50 $\mu$g/kg<br>DON and ZEA: 25 $\mu$g/kg | DON was found in 83% of the samples (with median of 308 $\mu$g/kg). ZEA (47% positives) and FUM (42% positives) were also frequently detected in dog food. OTA was found only in 5% of the samples whereas AF were not detected in any sample. | BÖHM et al. 2010 |
| Italy | 41 dry dog food samples (32 complete and 9 complementary formulations) | HPLC-MS/MS | $FB_1$: 0.100 $\mu$g/g<br>$FB_2$: 0.005 $\mu$g/g | $FB_1$ and $FB_2$ were quantified in 63.4 and 56.1% of the samples, respectively. The range of $FB_1$ + $FB_2$ was between 150 and 8800 µg/kg. Two samples (one complete and one complementary dog food), containing 5190 and 8800 µg/kg of $FB_1$ + $FB_2$, respectively. | PAGLIUCA et al. 2011 |
| South Africa | 60 dog food samples | HPLC | Not mentioned | 87% of the samples were positive for AFs (mainly $AFB_1$ and $AFB_2$): mean of 248 µg/kg, FUM were detected in 98% of the samples: mean of 1556 µg/kg. OTA was detected in 68% of the samples (mean of 13.7 µg/kg). ZEA was detected in 96% of the samples (mean value of 354 µg/kg). | MULUNDA et al. 2013 |
| China | 420 feedstuff samples | HPLC with fluorescence detection | Not mentioned | The incidence of T-2, ZEA and $FB_1$ was 79.5%, 85.2% and 96.1%, respectively; levels detected ranged from 10-735, 35-1478 and 20-6568 $\mu$g/kg, respectively. | WANG et al. 2013 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Poland | 25 dog and 24 cat food samples | HPLC-MS/MS | DON: 20 μg/kg<br>T-2 toxin: 1.5 μg/kg<br>HT-2 toxin, FUM: 5 μg/kg<br>ZEA: 0.10 μg/kg | DON and ZEA were detected in all samples. T-2 and HT-2 toxins were present in 88% and 84% of the samples, respectively. Two samples contained FUM. $AFB_1$ and OTA were detected in 8% and 45% of the samples, respectively. | BLAJET-KOSICKA et al. 2014 |
| Poland | 6 commercial dry foods for growing dogs | HPLC-MS | Not mentioned | All assayed substances were present in all products, however in small amounts. The average content of DON, ZEA, α-ZEL and β-ZEL were 11.2, 2.6, 5.3 and 3.9 μg/Kg, respectively. | HOLDA and GŁOGOWSKI 2014 |
| Italy | 48 samples of complete extruded dry dog foods | UPLC-MS/MS | DON and $FB_1$: 1 μg/Kg<br>$AFB_1$ and $AFB_2$: 0.5 μg/Kg<br>$AFG_1$, $AFG_2$, $FM_2$ and OTA: 2 μg/Kg<br>ZEA: 5 μg/Kg | DON was found in 100% of the samples; $AFB_1$ and AFG1 not detected; $AFB_2$ and $AFG_2$ detected in 4% and 8% of the samples, respectively; FUM and OTA in 88% and 81% of the samples, respectively | GAZZOTTI et al. 2015 |
| EU, the UK and Korea | 510 commercially pet food samples of cat and dog | HPTLC | $AFB_1$, $AFG_1$, OTA: 0.1 ng/g<br>$AFB_2$, $AFG_2$: 0.5 ng/g | Among all total analyzed samples, 28.82% (n = 147) samples were found positive for $AFB_1$, 5.80% of $AFB_2$ and 21.37% for OTA. However, neither cat food nor dog food was found contaminated for $AFG_1$ and $AFG_2$ | TAHIRA et al. 2015 |
| Egypt | 20 pet food (5 wet dog foods, 5 wet cat foods, 5 dry dog foods, 5 dry cat foods) | ELISA kit | AFs: 5 μg/kg<br>$AFB_1$: 1 μg/kg<br>OTA: 2.5 μg/kg<br>ZEA: 1.75 μg/kg | 15% of the samples were positive for $AFB_1$ (max 18.4 μg/kg); OTA was detected in most of the samples (max 6.65 μg/kg); ZEA was measured in 20% of the samples at levels between 148 and 1170 μg/kg | ABD-ELHAKIM et al. 2016 |
| Parana State, Brazil | 100 dry dog feed samples | HPLC | $FB_1$: 45.8 μg/kg<br>$FB_2$: 58.8 μg/kg<br>ZEA: 6.08 μg/kg<br>$AFB_1$: 0.32 μg/kg<br>$AFG_1$: 0.15 μg/kg<br>$AFB_2$: 1.09 μg/kg<br>$AFG_2$: 0.48 μg/kg | Despite the high frequency of FUM (68%), ZEA (95%) and AFs (68%) in feed samples, the mean levels detected were low. | BISSOQUI et al. 2016 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| South Africa | 20 dry dog foods | HPLC | Not mentioned | All the samples were positive for FUM; OTA and ZEA were detected in most of the samples at very low concentrations; AFs were identified in all the samples with relatively high concentrations of AFB$_1$ | SINGH and CHUTURGOON 2017 |
| Brazil | 87 feed samples intended for dogs (included standard, premium and superpremium quality) | HPLC | Not mentioned | FUM (FB$_1$+FB$_2$) were detected in 77.6% Standard followed by Premium (72%) and Super Premium (42.9%) feed samples. ZEA levels in most feed samples (90.1%) were below 50 $\mu$g/kg. Concerning total AFs (AFB$_1$ + AFB$_2$ + AFG$_1$ + AFG$_2$): Standard feed samples showed the highest mean levels (1.29 $\mu$g/kg), which differed significantly from the Premium (0.49 $\mu$g/kg) and Super Premium feed (0.53 $\mu$g/kg) | TEXEIRA et al. 2017 |
| USA | 58 dogs, cats, birds, and rabbits Pet food samples | ELISA and HPLC-MS/MS to confirm | AF: 0.02 $\mu$g/kg<br>OTA: 0.05 $\mu$g/kg<br>DON: 0.5 $\mu$g/g | OTA was detected in one rabbit pet food and AFs were detected in two samples. DON was detected in 74% of samples. One rabbit sample tested positive for both OTA and DON. | OKUMA et al. 2018 |
| China | 32 dry dog food samples of different commercial brands | HPLC-MS/MS | DON: 16.5 $\mu$g/Kg<br>AFG$_1$: 0.7 $\mu$g/Kg<br>AFB$_1$: 1.7 $\mu$g/Kg<br>CIT: 3.3 $\mu$g/Kg<br>FB$_1$: 10 $\mu$g/Kg<br>T-2 toxin: 3.3 $\mu$g/Kg<br>OTA: 10.7 $\mu$g/Kg<br>ZEA: 2.5 $\mu$g/Kg<br>BEA: 0.2 $\mu$g/Kg | Only one sample was free of contamination. All the other samples (96.9%) contained at least three mycotoxins. DON, ZEA, AFB$_1$, FB$_1$, CIT, and BEA displayed a relatively high occurrence (78.1, 62.5, 87.5, 93.8, 68.8, and 96.9%, respectively). T-2 toxin was found in only one sample (15.4 µg/kg) and OTA in two samples (15.1 and 17.3 µg/kg). | SHAO et al. 2018 |
| Italy | 64 extruded cat foods | UPLC-MS/MS | ZEA: 5 $\mu$g/Kg<br>DON, FUM and AF$_1$: 3 $\mu$g/Kg<br>T-2 toxin: 10 $\mu$g/Kg<br>HT-2 toxin: 20 $\mu$g/Kg | DON and FUM were the most common contaminants (quantified in 80 and 95% of the samples, respectively). Conversely, AFB$_2$, AFG$_1$, and AFG$_2$ were not identified in any sample. | GRANDI et al. 2019 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Southern California | 60 samples of dry and wet dog foods | HPLC-MS/MS | $AFB_1$, $AFB_2$, $AFG_1$ and $AFG_2$: 1 μg/g<br>DON, FUM, T-2 toxin and HT-2 toxin: 0.1 μg/Kg<br>OTA: 2 μg/g<br>ZEA: 20 μg/g | None of the total samples tested had concentrations above the detection limits for $AFB_1$, $AFB_2$, $AFG_1$, $AFG_2$, HT-2 toxin, OTA, or T-2 toxin | TEGZES et al. 2019 |
| Poland | 42 samples (which consisted of 17 veterinary diets for cats and 25 veterinary diets for dogs) | HPLC | ZEA: 1 ng/g<br>$FB_1$: 2 ng/g<br>DON and NIV: 10 ng/g | ZEA was detected in 69% (range, 1.22-51.7 µg/kg), DON in 52% (24.87-2451 µg/kg), $FB_1$ in 33% (4.89-80.13 µg/kg), and NIV in 26% (17.43-200 µg/kg) of the samples. | WITASZAK et al. 2019 |
| Canary Islands (Spain) | 60 packages of pelleted dry food for cats and 62 packages of pelleted dry food for dogs | UPLC-MS/MS | AFs = 0.025 ng/g<br>OTA: 0.1 ng/g<br>FUM: 2.5 ng/g<br>T-2 toxin: 0.2 ng/g<br>HT-2 toxin: 0.1 ng/g<br>DON: 5 ng/g<br>ZEA: 0.04 ng/g | $AFB_1$, HT-2 toxin, DON, and $FB_1$ and $FB_2$ were detected in 100% of the samples analyzed. | MACÍAS-MONTES et al. 2020 |

**Table 1.** Studies on the incidence of the main mycotoxins present in pet food.

AFs: aflatoxins; $AFB_1$: aflatoxin $B_1$; $AFB_2$: aflatoxin $B_2$; $AFG_1$: aflatoxin $G_1$; $AFG_2$: aflatoxin $G_2$; FUM: fumonisins; ZEA: zearalenone; ZEL: zearalenol; DON: deoxynivalenol; OTA: ochratoxin A; CIT: citrin; BEA: beauvericin; NIV: nivalenol; HPLC: high-performance liquid chromatography; UPLC-MS/MS: ultra-performance liquid chromatography (UPLC) coupled with tandem mass spectrometry; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

## Mycotoxins and the production process of dry pet food

Most of these mycotoxins found in pet food are chemically and thermally stable compounds. Once mycotoxins are formed in the feed ingredients, efforts must be made to ensure detoxification during processing and/or prevent mycotoxicosis without compromising the nutritional quality of the pet food (Atungulu et al. 2018). It has been shown that extrusion cooking can lead to a reduction in the mycotoxins levels present in cereals such as corn, wheat and rice (Castells et al. 2005) but not their elimination. The rate of reduction of the mycotoxin concentration in a finished product depends on several factors including the initial concentration and group of mycotoxins, the temperature of the extruder, the speed and type of screw, the moisture content of the extrusion mixture, the residence time inside the extruder and the use of additives. Among these factors, extrusion temperature and residence time appear to have the greatest effect. The greatest reductions in mycotoxin concentrations in extrudates occur at temperatures of 160 °C (or higher) and long residence times (Bullerman et al. 2007). Unfortunately the extrusion process to obtain dry pet food does not reach the necessary temperature to obtain a significant destruction of mycotoxins.

In other words, the temperature in the extruder does not exceed 130 °C since the availability of proteins, vitamins and other thermolabile nutrients could be affected.

## Prevention strategies applied to dry pet food

Mycotoxin contamination of grains (used as raw material for the elaboration of dry pet food) can occur during the pre- or post-harvest stages due to the application of inappropriate agricultural practices (Kabak et al. 2006; Neme et al. 2017). At present it is not feasible to completely eliminate products contaminated by mycotoxins, therefore, it is important that grain producers are aware that good agricultural practices are the first line of defense against contamination of cereals by mycotoxins, followed by good manufacturing practices during the handling, storage and distribution of cereals intended for human and animal consumption.

Methods used by the pet food industry to prevent mycotoxicoses include processing techniques, nutrient supplementation, use of mycotoxin adsorbent, and microbial inactivation. Contamination levels in most cereal-based pet food ingredients can be reduced by sieving, washing, and pearling techniques. Broken, malformed, and immature kernels, as well as dust and other materials, tend to promote fungal growth and mycotoxin contamination. The use of sieves to remove unwanted grain fractions can significantly prevent mycotoxin contamination (Geetanjali, 2013). Successful mycotoxin reduction has also been achieved by washing methods. A wash treatment may require the moistened product to dry, which could mean additional expense; this can have significant financial consequences for pet food manufacturers. Peeled or sequential removal of the outer portions of the kernels by abrasive pearling procedures has also been used to decrease mycotoxins. Other processing techniques to prevent mycotoxin contamination in pet food include ozonation and the addition of acid-based fungal inhibitors (benzoic, acetic, sorbic, and propionic acid) (Atungulu et al. 2018).

The effectiveness of the use of nutritional supplements, especially neutral amino acids, antioxidants, and polyunsaturated fatty acids has been reported to manage mycotoxin-induced tissue damage and altered behavior. In many circumstances, there are still numerous clinical feeding trials that need to be conducted to determine the efficiency of using these dietary supplements to treat mycotoxicoses in pets.

The most common strategy to mitigate the exposure of animals to mycotoxins is to reduce the bioavailability of these toxins by incorporating various detoxifying agents in the feed in order to reduce their absorption and distribution through the bloodstream to vulnerable organs. Mycotoxin adsorbing agents are high molecular weight compounds that are not digested by the animal and are excreted in the faeces. The two most widely studied categories of mycotoxin sequestrants include hydrated calcium sodium aluminosilicate and silicate minerals (HSCAS) (Amer et al. 2018). Other minor categories include activated charcoal, cholestyramine, chlorophyllin, and yeast cell wall derived agents (EFSA, 2009).

Silicate minerals comprise the largest class of mycotoxin sequestering agents and include bentonites and zeolites. The latter are widely used because they have a high degree of ion exchange capacity and are primarily effective against aflatoxins. The disadvantage of most of these mycotoxin sequestering agents include the fact that they only absorb specific mycotoxins, require a high inclusion rate in animal feed, can cause other health complications, or are too expensive for industrial applications. In contrast, polymers containing naturally occurring glucomannan extracted from yeast cell wall may have some merits for practical use in the pet food industry. Glucomannan has a high adsorption capacity to bind to a combination of different mycotoxins; this, together with low inclusion rates, make them attractive for preventing mycotoxicosis in the pet food industry (Jard et al. 2011).

The use of some microorganisms, such as lactic acid bacteria and bifidobacteria, has been shown to prevent mycotoxicosis in pet food (Muhialdin et al. 2020). These bacteria have the ability to reduce the bioavailability of aflatoxins by binding them through peptidoglycans and polysaccharides in the bacterial cell wall. Saccharomyces cerevisiae yeast can reduce the bioavailability of mycotoxins. The presence of beta-D-glucans in the yeast cell wall has been correlated with the elimination of mycotoxins such as zearalenone, aflatoxin $B_1$, deoxynivalnol and ochratoxin A.

In the Argentine market, dry products for pets are currently for sale (regardless of whether they are dogs or cats, puppies or adults), where some of the ingredients mentioned above are declared among the components. The vast majority are present in products in the super premium segment.

## CONCLUSIONS

Good processing techniques, sequestering agents, nutritional supplementation, and microbial inactivation methods used to prevent mycotoxicoses in pet food should not replace the need to use high-quality ingredients to avoid the presence of these metabolites in such feeds. The procurement of ingredients from the point of supply, prior to procurement, and subsequent storage and handling methods significantly affect their quality. It is important to purchase ingredients from trusted suppliers, with established processing guidelines, to avoid mycotoxin production in source products. In the case of ingredients of plant origin, several strategies could be used for plantations, ranging from (1) the selection of varieties of crops resistant to mycotoxin-producing fungi; (2) proper production practices, such as the correct choice of planting and harvest dates, crop rotation, plant population, irrigation, and sanitation schemes to limit the proliferation of mycotoxin-producing fungi, and (3) the appropriate application of chemicals for crop protection or biological controls to mitigate mycotoxin production.

## REFERENCES

ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLÁ, G.; ACCENSI, F.; CABAÑES, F. J. Hongos productores de micotoxinas emergentes. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 17, p. S63-S68, 2000.

ABD-ELHAKIM, Y. M.; EL SHARKAWY, N. I.; MOUSTAFA, G. G. An investigation of selected chemical contaminants in commercial pet foods in Egypt. **Journal of Veterinary Diagnostic. Investigation**, v. 28, p. 70-75, 2016.

Amer, S. A.; Kishawy, A. T. Y.; ELseddawy, N. M.; Abd El-Hack, M. E. Impacts of bentonite supplementation on growth, carcass traits, nutrient digestibility, and histopathology of certain organs of rabbits fed diet naturally contaminated with aflatoxin. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 1340-1349, 2018.

ARANGO, J. G. Alimentación general y especializada para mascotas en una empresa productora de alimentos balanceados para animales. Tesis para optar al título de Zootecnia. Corporación Universitaria Lasallista, Caldas-Antioquia.

ATUNGULU, G. G.; MOHAMMADI-SHAD, Z.; WILSON, S. Mycotoxin issues in pet food. **Food and Safe Safety Systems and Analysis,** p. 25-44, 2018.

BISSOQUI, L. Y.; FREHSE, M. S.; FREIRE, R. L.; ONO, M. A.; BORDINI, J. G.; HIROZAWA, M. T.; DE OLIVEIRA, A. J.; ONO, E. Y. Exposure assessment of dogs to mycotoxins through consumption of dry feed. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 96, p. 4135-4142, 2016.

BLAJET-KOSICKA, A.; KOSICKI, R.; TWARUZEK, M.; GRAJEWSKI, J. Determination of moulds and mycotoxins in dry dog and cat food using liquid chromatography with mass spectrometry and fluorescence detection. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 7, p. 302-308, 2014.

BULLERMAN, L. B.; BIANCHINI, A. Stability of mycotoxins during food processing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, p. 140-146, 2007.

BÖHM, J.; KOINIG, L.; RAZZAZI-FAZELI, E.; BLAJET-KOSICKA, A.; TWARUZEK, M.; GRAJEWSKI, J.; LANG, C. Survey and risk assessment of the mycotoxins deoxynivalenol, zearalenone, fumonisins, ochratoxin A, and aflatoxins in commercial dry dog food. **Mycotoxin Research**, v. 26, p. 147-153, 2010.

CARRIÓN, P. A.; THOMPSON, L. J. Pet Food. In *Food Safety Management. A Practical Guide for the Food Industry*; MOTARJEMI, J.; LELIEVELD, H., Eds.; Academic Press: Whaltam, MA, p. 379-396, 2014.

CASTELLS, M.; MARÍN, S.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: A review. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, p. 150-157, 2005.

CRANE, S.; GRIFFIN, R.; MESSENT, P. Introducción a los alimentos comerciales para mascotas. In: HAND, M.; THATCHER, C.; REMILLARD, R.; ROUDEBUSH, P. (Eds). Nutrición clínica en pequeños animales. 4ª edición. Mark Morris Institute. Missouri, USA. p. 128-147, 2000.

European Food Safety Authority (EFSA). Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety, CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01.

GAZZOTTI, T.; BIAGI, G.; PAGLIUCA, G.; PINNA, C.; SCARDILLI, M.; GRANDI, M.; ZAGHINI, G. Occurrence of mycotoxins in extruded commercial dog food. **Animal Feed Science and Technology**, v. 202, p. 81-89, 2015.

GÓMEZ, L. F.; ATEHORTUA, C. G.; OROZCO, S. C. The influence of mascots in human lives. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 20, p. 20:377-386, 2007.

GRANDI, M.; VECCHIATO, C. G.; BIAGI, G.; ZIRONI, E.; TONDO, M. T.; PAGLIUCA, G.; PALMONARI, A.; PINNA, C.; ZAGHINI, G.; GAZZOTTI, T. Occurrence of mycotoxins in extruded commercial cat food. **ACS Omega**, v. 4, p. 14004-14012, 2019.

HASCHEK, W. M.; VOSS, K. A. In: Handbook of toxicologic pathology (HASCHEK, W. M.; ROUSSSEAUX, C. G.; WALLING, M. A.; BOLON, B.; OCHOA, R.). Elsevier Academic Press. United States of America, p. 1187-1258, 2013.

HOŁDA, K.; GŁOGOWSKI, R. A survey of deoxynivalenol and zearalenone content in commercial dry foods for growing dogs. **Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW Animal Science**, v. 53, p. 111-117, 2014.

JARD, G.; THIERRY, L.; FLORENCE, M.; ALAIN, G.; AHMED, L. Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 28, p. 1590-1609, 2011.

KABAK, B.; DOBSON, A. D. W.; VAR, I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, p. 593-619, 2006.

GEETANJALI, K. Effect of processing on mycotoxin content in grains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55:12, p. 1672-1683, 2013.

LEUNG, M. C.; DÍAZ-LLANO, G.; SMITH, T. K. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 9623-9635, 2006.

MACÍAS-MONTES, A.; RIAL-BERRIEL, C.; ACOSTA-DACAL, A.; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A.; ALMEIDA-GONZÁLEZ, M.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A.; ZUMBADO, M.; BOADA, L. D.; ZACCARONI, A.; LUZARDO, O. P. Risk assessment of the exposure to mycotoxins in dogs and cats through the consumption of commercial dry food. **Science of the Total Environment**, v. 708, 134592, 2020.

MAIA, P. P.; DE SIQUEIRA, M. Occurrence of aflatoxins B-1, B-2, G (1) and G (2) in some Brazilian pet foods. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, p. 1180-1183, 2002.

MUHIALDIN, B. J.; SAARI, N.; MEOR HUSSIN, A. S. Review on the biological detoxification of mycotoxins using lactic acid bacteria to enhance the sustainability of foods supply. Molecules, v. 25, p. 2655, 2020.

MULUNDA, M.; NDOU, R. V.; DZOMA, B.; NYIRENDA, M.; BAKUNZI, F. Canine aflatoxicosis outbreak in South Africa (2011): A possible multi-mycotoxins aetiology. **Journal of the South African Veterinary Association**, p. E1–E5, 2013.

NEME, K.; MOHAMMED, A. Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategy. A review. **Food Control**, v. 78, p. 412-425, 2017.

PAGLIUCA, G.; LUGOBONI, B.; GAZZOTTI, T.; CIPOLLINI, I.; ZAGHINI, G. Fumonisin B1 and B2 in dry dog food: preliminary study on commercial samples. **World Mycotoxin Journal**, v. 4, p. 439-446, 2011.

PLEADIN, J.; FRECE, J.; MARKOV, K. Mycotoxins in food and feed. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 89, p. 297-345, 2019.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. The ecology of fungal food spoilage. In Fungi and food spoilage. Springer, Boston, MA, p. 3-9, 2009.

PÜHRINGER, S.; RAZZAZI-FAZELI, E.; KÜBBER-HEISS, A.; BÖHM, J.; IBEN, C. Occurrence of ochratoxin A in feline kidneys and pet foods for cats. **Wiener Tierärztliche Monatsschrift**, v. 94, p. 192-196, 2007.

RAZZAZI, E.; BÖHM, J.; GRAJEWSKI, J.; SZCZEPANIAK, K.; KÜBBER-HEISS, A. J.; IBEN, C. H. Residues of ochratoxin A in pet foods, canine and feline kidneys. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, p. 212-216, 2001.

Resolución 594/2015 Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) 26-nov-2015. Publicada en el Boletín Oficial del 04-dic-2015. Número 33270. Página: 71. http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-594-2015-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria.

SHAO, M.; LI, L.; GU, Z.; YAO, M.; XU, D.; FAN, W.; YAN, Y.; SONG, S. Mycotoxins in commercial dry pet food in China. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 11, p. 237-245, 2018.

SHARMA, M.; MARQUEZ, C. Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. **Animal Feed Science and Technology**, v. 93, p. 109-114, 2001.

SINGH, S. D.; CHUTURGOON, A. A. A comparative analysis of mycotoxin contamination of supermarket and premium brand pelleted dog food in Durban, South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 88, e1-e6, 2017.

SONGSERMSAKUL, P.; RAZZAZI-FAZELI, E.; BÖHM, J.; ZENTEK, J. Occurrence of deoxynivalenol (DON) and ochratoxin A (OTA) in dog foods. **Mycotoxin Research**, v. 23, p. 65-67, 2007.

TEGZES, J. H.; OAKLEY, B. B.; BRENNAN, G. Comparison of mycotoxin concentrations in grain versus grain-free dry and wet commercial dog foods. **Toxicology Communications**, v. 3, p. 61-66.

TEIXEIRA, E. M. K.; FREHSE, M. S.; FREIRE, R. L.; ONO, M. A.; BORDINI, J. G.; HIROZAWA, M. T.; ONO, E. Y. S. Safety of low and high cost dry feed intended for dogs in Brazil concerning fumonisins, zearalenone and aflatoxins. **World Mycotoxin Journal**, v. 10, p. 273-283, 2017.

WANG, Y.; LIU, S. L.; ZHENG, H.; HE, C. H.; ZHANG, H. B. T-2 toxin, zearalenone and fumonisin $B_1$ in feedstuffs from China. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 6, p. 116-122, 2013.

WITASZAK, N.; STĘPIEN, Ł.; BOCIANOWSKI, J.; WASKIEWICZ, A. *Fusarium* species and mycotoxins contaminating veterinary diets for dogs and cats. **Microorganisms**, v. 7, p. 26, 2019.

# CAPÍTULO 13

# ÁCIDOS GRAXOS TRANS: ORIGEM ANIMAL E INDUSTRIAL

*Data de aceite: 01/08/2021*

**Mahyara Markievicz Mancio Kus-Yamashita**
Instituto Adolfo Lutz
São Paulo, SP
http://lattes.cnpq.br/0918830853294079

**Thaís Fukui de Sousa**
Instituto Adolfo Lutz
Curso de Especialização em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública
São Paulo, SP
http://lattes.cnpq.br/9221688686890548

**RESUMO:** O elevado consumo de ácidos graxos trans associado a um estilo de vida sedentário vem sendo considerado um dos fatores da incidência de doenças crônicas não transmissíveis na população ao longo dos anos. Razão pela qual a Organização Mundial da Saúde (OMS), assim como o Ministério da Saúde do Brasil em consonância com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estipularam uma meta de eliminar os ácidos graxos trans de origem industrial dos alimentos até 2023, devido seu alto teor nos produtos processados e ultraprocessados, aliado aos malefícios à saúde atribuídos aos ácidos graxos trans de origem industrial.

**PALAVRAS - CHAVE:** Gorduras trans, hidrogenação, metabolismo, industrial, ruminantes.

## TRANS FATTY ACIDS: ANIMAL AND INDUSTRY SOURCES

**ABSTRACT:** The high consumption of trans fatty acids associated with a sedentary lifestyle has been considered one of the factors in the incidence of chronic non-communicable diseases in the population over the years. That is why the World Health Organization (WHO), as well as the Ministry of Health of Brazil, in line with the National Health Surveillance Agency (ANVISA), stipulated a goal to eliminate trans fatty acids of industrial origin from food by 2023, due to its high content in processed and ultra-processed products, combined with the health hazards attributed to trans fatty acids of industrial origin.

**KEYWORDS:** Trans fat, hydrogenation, metabolism, industrial, ruminants.

## 1 | INTRODUÇÃO

O ser humano sempre consumiu alimentos que continham ácidos graxos trans. No passado as fontes eram apenas as carnes, leite e produtos derivados de animais ruminantes, porém a partir da industrialização dos alimentos, em especial com o desenvolvimento da hidrogenação parcial dos óleos vegetais e a mudança nos padrões alimentares, seu consumo teve um aumento significativo. Esse cenário somado ao estilo de vida sedentário fez com que aumentasse o número de casos de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como a obesidade, diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares, em todo o mundo

(PADOVESE; MANCINI-FILHO, 2002; GAZZOLA; DEPIN, 2015).

Devido a esse cenário, a Organização Mundial da Saúde/ *Food and Agriculture Organization* (OMS/FAO) recomenda uma ingestão de ácidos graxos trans (AGT) inferior a 1% do valor energético total da alimentação, independente de sua origem ser natural ou industrial. Entretanto, devido ao baixo teor e à falta de informação dos efeitos dos ácidos graxos trans provenientes dos animais ruminantes, as políticas mundiais consideraram como prioridade os ácidos graxos trans industriais, por ser a maior fonte deste tipo de ácido graxo  e, cujo risco a saúde é comprovado (ANVISA, 2019).

No Brasil, foram adotadas medidas para diminuir o conteúdo de ácidos graxos trans industriais nos alimentos, tendo como meta a adoção de um limite máximo de 2% destes ácidos em relação ao de gorduras totais entre os anos 2021 e 2023, e a proibição do uso de óleos e gorduras parcialmente hidrogenados nos alimentos a partir de 2023, compactuando com os planos da OMS para eliminar os ácidos graxos trans industriais da cadeia global de alimentos até esta data (BRASIL, 2019b).

## 2 | LIPÍDIOS

Os lipídios representam uma categoria de macronutrientes responsáveis por conferir sabor, aroma e textura aos alimentos, além de desempenharem diversas funções no organismo, como por exemplo, são fonte de energia, componentes estruturais e funcionais das membranas celulares, precursores de eicosanóides e auxiliares na absorção de vitaminas lipossolúveis. Dentre os lipídios estão os óleos e gorduras, constituídos principalmente por triglicerídeos, que são ésteres formados a partir de uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos (MERÇON, 2010; FIELD; ROBINSON, 2019).

## 3 | ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia carbônica longa, sendo diferenciados pelo número de carbonos e insaturações presentes na cadeia. Quando há insaturações, a molécula pode assumir tanto a conformação cis quanto trans, embora os isômeros cis sejam encontrados com mais frequência na natureza devido à biossíntese de lipídeos favorecer sua formação (MERÇON. 2010; RAMALHO; SUAREZ, 2013).

A estrutura dos ácidos graxos influencia diretamente nas propriedades físico-químicas dos óleos e gorduras, como o ponto de fusão, sendo que os triacilglicerídeos compostos por ácidos graxos saturados se apresentam na forma sólida ou pastosa, enquanto que os constituídos por isômeros cis estão líquidos a 25ºC, devido à dificuldade de interação entre as moléculas por causa da configuração espacial dos átomos (RAMALHO; SUAREZ, 2013). O que não ocorre com os isômeros trans, uma vez que estes possuem uma configuração diferenciada em torno da dupla ligação conferindo à molécula uma maior

linearidade, facilitando o alinhamento das cadeias e, consequentemente, aumentando o ponto de fusão e viscosidade à temperatura ambiente, assemelhando-se aos ácidos graxos de cadeia saturada (PFEUFFER; JAHREIS, 2018).

### 3.1 Ácidos graxos trans (AGT)

Os ácidos graxos trans são ácidos graxos insaturados que possuem ao menos uma insaturação na configuração trans, ou seja, os átomos de hidrogênio ficam em lados opostos na cadeia de carbono na região da dupla ligação (ARENHART et al., 2009).

Eles podem ter duas origens: biológica ou industrial. Na biológica, os AGT são sintetizados a partir do metabolismo lipídico que ocorre no rúmen e glândulas mamárias de animais ruminantes; enquanto que na industrial, são formados pela hidrogenação parcial dos óleos e por indução térmica, durante os processos de desodorização no refino do óleo e na fritura de alimentos, sendo estes amplamente utilizados pela indústria alimentícia na fabricação de produtos processados. Embora os ácidos graxos trans formados a partir das duas origens apresentem basicamente os mesmos isômeros, estes estão em proporções diferentes, pois enquanto o principal ácido graxo presente na gordura de origem industrial é o ácido elaídico (C18:1Δ9t), na gordura dos ruminantes, o ácido vacênico (C18:1Δ11t), é o composto majoritário, sendo encontrado também os ácidos linoléicos conjugados (CLA), tendo o ácido rumênico (C18:2Δ9c,11t) como principal constituinte (PFEUFFER; JAHREIS, 2018; ANVISA, 2019). Na Figura 1 estão representadas as estruturas químicas dos respectivos ácidos graxos trans.

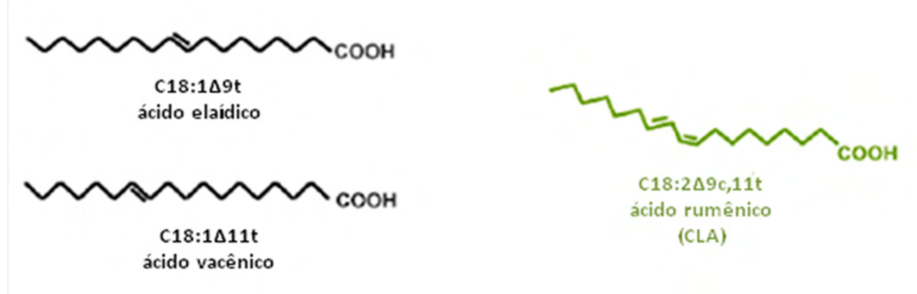



Figura 1. Estrutura química dos ácidos graxos trans: elaídico, vacênico e rumênico (CLA) (Fonte: PFEUFFER; JAHREIS, 2018 adaptado)

### 3.2 Ácidos graxos trans industriais (AGTi)

Os AGTi mais comumente encontrados nos alimentos, cerca de 90%, derivam da hidrogenação parcial dos óleos vegetais, onde átomos de hidrogênio são adicionados às duplas ligações dos ácidos graxos, eliminando-as, na presença de um catalisador. Alguns parâmetros podem ser utilizados para se obter um produto de composição e propriedades

desejadas, como variação de temperatura, tipo de catalisador, pressão e tempo de duração da reação de hidrogenação. Neste processo, óleos vegetais líquidos são transformados em gorduras vegetais hidrogenadas, sólidas à temperatura ambiente, podendo ser utilizadas para alterar as características físicas e sensoriais dos alimentos, como consistência, textura, sabor, aumentando a sua palatabilidade. Também conferem ao produto maior resistência à oxidação, impactando no aumento de seu prazo de validade, sendo um dos motivos pelo qual foram adotadas pelas indústrias alimentícias, além de serem baratas e de fácil manuseio. Por fim, apresentam ponto de fusão mais elevado do que os outros óleos vegetais, diminuindo o tempo de cozimento dos alimentos (PADOVESE; MANCINI-FILHO, 2002; ARENHART et al., 2009; ANVISA, 2019).

Nesse processo são formados mais de 20 isômeros trans, sendo o ácido elaídico (C18:1 Δ9t) produzido em maior quantidade (ANVISA, 2019).

O aquecimento também pode causar a formação de AGTi, como no processo de desodorização dos óleos durante seu refino e o processo de fritura, quando isômeros trans são formados e incorporados aos alimentos (PADOVESE; MANCINI-FILHO, 2002).

A desodorização é a última etapa no processo de refino dos óleos vegetais, tendo como finalidade remover substâncias voláteis que dão ao produto odor desagradável, melhorando também sua estabilidade e propriedades sensoriais, como aspecto, sabor e cor. A quantidade de ácidos graxos trans formada depende do tempo que o óleo permanece no desodorizador e da temperatura utilizada no processo, sendo que quanto maior for a temperatura, mais isômeros trans são formados (ANVISA, 2019).

Durante a fritura, são formados inúmeros isômeros trans dos ácidos oléico, linoléico e alfa-linolênico, sendo estes incorporados ao alimento quando submetido ao processo de imersão. Sua formação está relacionada ao tipo de óleo, ao tempo de uso e à temperatura atingida durante o processo, havendo formação de AGT a partir de 150ºC, ficando mais significativa acima de 250ºC. (MARTIN et al., 2007; FREIRE et al., 2013).

Os AGTi estão presentes em todos os produtos que utilizam gordura vegetal hidrogenada no seu processamento em quantidades variáveis dependendo da categoria do alimento, podendo variar de 2 a 40%, sendo encontrados principalmente nos alimentos processados, como sorvetes, batatas-fritas, salgadinhos, biscoitos recheados, biscoito de polvilho, margarinas, cremes vegetais, bolo, pipoca de microondas, além de frituras em geral e sanduíches de *fast food* (ARENHART et al., 2009; ANVISA, 2019).

## 3.3 Ácidos graxos trans de ruminantes (AGTr)

Os AGTr podem ser formados a partir da biohidrogenação bacteriana que ocorre no rúmen ou do metabolismo lipídico presente nas glândulas mamárias dos animais ruminantes. Eles são encontrados em carnes e alimentos derivados destes animais, como leite, banha, manteiga, iogurte e queijos, compondo de 3 a 6% dos lipídios totais nestes produtos (ANVISA, 2019).

Na biohidrogenação, os ácidos graxos insaturados, linoléico e linolênico, provenientes da dieta são convertidos a ácido esteárico por meio de um processo de isomerização e em seguida pela redução das duplas ligações, a fim de proteger as bactérias presentes no rúmen dos efeitos deletérios dos lipídios. Neste processo, são formados diversos isômeros trans, incluindo o ácido vacênico (C18:1Δ11t), que podem atravessar o rúmen e serem utilizados na síntese de lipídios no tecido adiposo e nas glândulas mamárias. O ácido rumênico, o principal CLA encontrado em ruminantes, também é formado durante a biohidrogenação (GATTÁS; BRUMANO, 2005; PESSOA et al., 2016). Nas glândulas mamárias, também ocorre a síntese de AGTr pela via *de novo*, pela ação da enzima estearoil-CoA desaturase (ANVISA, 2019).

## 4 I PROBLEMÁTICA MUNDIAL

Os óleos parcialmente hidrogenados começaram a ser utilizados pela indústria alimentícia em meados dos anos 1950. Estes foram bem aceitos devido seu custo reduzido e por conferirem aos alimentos um prazo de validade maior do que as gorduras saturadas. Durante a década de 1960, passou a ser utilizado como substituto das gorduras saturadas, visto que seu consumo estava associado ao desenvolvimento de doenças cardíacas, embora ainda não se conhecessem os efeitos que as gorduras trans poderiam causar no organismo. Apenas nos anos 1990, a partir de estudos que observaram aumento nos níveis de colesterol LDL e redução do colesterol HDL, essas gorduras foram associadas a fatores de risco à saúde (TEEGALA et al., 2009; GAZZOLA; DEPIN, 2015).

No ano de 2003, após uma consulta com especialistas sobre alimentação, nutrição e prevenção de DCNT, a OMS/FAO reconheceu que o aumento destas doenças estava relacionado com as mudanças no estilo de vida e na dieta, fatos estes que vêm ocorrendo tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento. Nesta consulta, foram estabelecidos alguns componentes da dieta que aumentam o risco de ocorrer tais doenças e as medidas para reduzir seus impactos, sendo que os ácidos graxos trans de origem industrial foram um dos fatores abordados, devido aos diversos estudos relacionando seu consumo com o aumento dos níveis do colesterol LDL e diminuição dos níveis do colesterol HDL, apresentando evidência convincente para o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, e possível para diabetes tipo 2 (WHO, 2003).

Desde então, a OMS/FAO recomenda uma ingestão de AGT inferior a 1% do valor energético total da alimentação, equivalente a cerca de 2 gramas diários, considerando uma dieta de 2000 quilocalorias (ANVISA, 2019).

Em 2004, visando à redução dos impactos causados pelas DCNT, a OMS lançou a “Estratégia Global da OMS sobre Alimentação, Atividade Física e Saúde” trazendo como recomendações a redução do uso de óleos e gorduras parcialmente hidrogenados e a eliminação do consumo de AGT (ANVISA, 2019).

No ano de 2008, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) divulgou a Declaração do Rio de Janeiro para as Américas Livres de Gorduras Trans, onde ficou estabelecido que o teor dos AGTi não deve ser maior que 2% da gordura total em óleos e margarinas e de 5% em outros alimentos processados, os AGTi devem ser substituídos por gorduras insaturadas, a rotulagem dos AGT deve ser obrigatória nos países das Américas e os serviços de alimentação devem informar a quantidade de AGT em suas preparações (ANVISA, 2019).

Em 2013, foi criado o “Plano de Ação Global para Prevenção e Controle das Doenças Crônicas não Transmissíveis” com recomendações para substituir os AGT por ácidos graxos poli-insaturados. E em 2018, foi lançado o “REPLACE“, um pacote de medidas que serve como um guia para os países implementarem ações visando reduzir e eliminar os AGTi até 2023. O termo REPLACE foi formado a partir das estratégias recomendadas para atingir a meta, onde:

- ***RE****view*: revisar as fontes alimentares de AGTi e condições para mudança política;
- ***P****romote*: promover a substituição de AGTi por gorduras e óleos mais saudáveis;
- ***L****egislate*: legislar ações regulatórias para eliminar os AGTi;
- ***A****ssess*: avaliar e monitorar o teor de AGT nos alimentos e as mudanças do seu consumo na população;
- ***C****reate*: criar consciência do impacto negativo dos AGTi na saúde entre legisladores, produtores, fornecedores e o público;
- ***E****nforce*: estimular a conformidade de políticas e regulamentos (WHO, 2018; ANVISA, 2019).

Em 2003, a Dinamarca foi o primeiro país a criar políticas para reduzir o uso de AGTi, limitando a quantidade de AGTi presente em todos os alimentos a no máximo 2% das gorduras totais, embora os produtos não fossem obrigados a apresentar rotulagem informando os consumidores da presença de gorduras trans. Essas leis serviram de modelo para que outros países também adotassem medidas para reduzir seu consumo e utilização (L’ABBÉ et al., 2009; WHO, 2019a).

Em 2019, 28 países implementaram limites para a quantidade de AGT ou a proibição do uso de óleos parcialmente hidrogenados, como os Estados Unidos, Canadá, Argentina, Áustria, Irã, Tailândia, China e África do Sul e, outros 24 adotaram limites que entrarão em vigor nos próximos dois anos. Outra medida que também foi adotada por diversos países refere-se à obrigatoriedade de apresentar no rótulo a quantidade de gorduras trans contida nos alimentos (WHO, 2019a).

A Figura 2 mostra como os países estão lidando com a questão dos ácidos graxos trans, de acordo com informações colhidas pelo Banco de Dados Global de Ações de

Implementação de Nutrição (GINA).

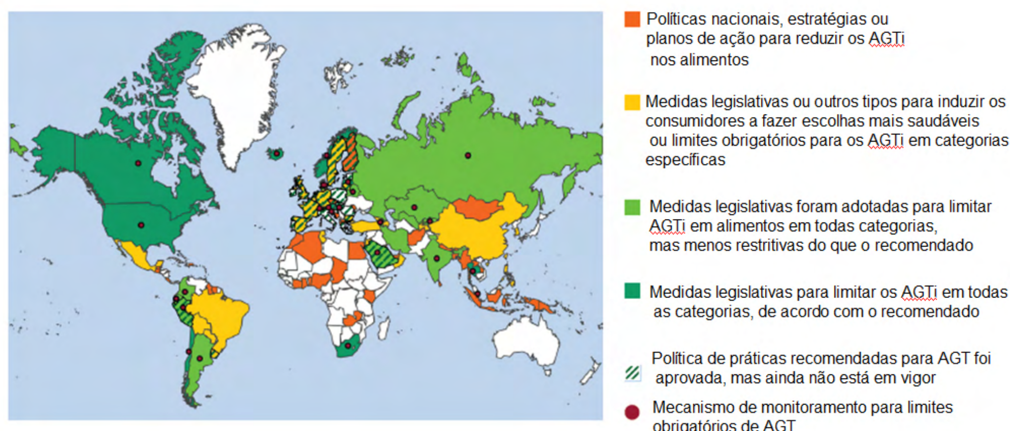



Figura 2. Mapa do desempenho da implementação de políticas sobre os AGT pelo mundo

(Fonte: WHO, 2019b adaptado)

As políticas praticadas atualmente em todo o mundo têm como foco principal os AGTi, uma vez que estes constituem a maior fonte de AGT presente nos alimentos, além da certeza de que seu consumo aumenta os fatores de risco causadores das DCNT, principalmente das doenças cardiovasculares. Enquanto que os alimentos derivados de animais ruminantes possuem baixo teor de AGT em sua composição, sendo que o consumo de AGTr não representaria um fator de risco significativo para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, embora faltem evidências consistentes que comprovem que os AGTr provocam efeitos metabólicos diferentes aos dos AGTi quando consumidos em quantidades semelhantes (ANVISA, 2019).

## 5 I CONCLUSÃO E NOVAS PERSPECTIVAS

Os malefícios que o consumo de AGTi trazem à saúde já estão bem estabelecidos, enquanto que os efeitos dos AGTr ainda estão sendo estudados. Embora alguns estudos indiquem que seu consumo é tão prejudicial quanto dos AGTi quando ingeridos nas mesmas quantidades, o teor contido nos alimentos é muito baixo, fazendo com que o foco de combate às DCNT sejam políticas públicas para a eliminação dos AGTi dos alimentos. Portanto, novos estudos sobre o impacto dos AGTr na saúde são essenciais, bem como a quantidade destes ácidos graxos nos alimentos.

## REFERÊNCIAS

ANVISA. **Relatório de análise de impacto regulatório sobre ácidos graxos trans em alimentos**. Brasília, jul. 2019.

ARENHART, M. et al. A realidade das gorduras trans: conhecimento ou desconhecimento. **Disciplinarium Scientia**, Santa Maria, v. 10, n. 1, p. 59-68, 2009.

BRASIL. ANVISA. Resolução RDC nº 332, de 23 de dezembro de 2019. Define os requisitos para uso de gorduras trans industriais em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, nº 249, 26 dez. 2019b.

FIELD, C. J.; ROBINSON, L. Dietary fats. **Advances in Nutrition**, Bethesda, v. 10, p. 722-724, 2019.

FREIRE, P. C. M.; MANCINI-FILHO, J.; FERREIRA, T. A. P. C. Principais alterações físico-químicas em óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura por imersão: regulamentação e efeitos na saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 353-368, 2013.

GATTÁS, G.; BRUMANO, G. Ácido linoléico conjugado (CLA). **Revista Eletrônica Nutritime**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 164-171, 2005.

GAZZOLA, J.; DEPIN, M. H. Associação entre consumo de gordura trans e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV). **Extensio: Revista Eletrônica de Extensão**, Florianópolis, v. 12, n. 20, p. 90-102, 2015.

L'ABBÉ, M. R. et al. Approaches to removing trans fats from the food supply in industrialized and developing countries. **European Journal of Clinical Nutrition**, Londres, v. 63, p. S50-S67, 2009.

MARTIN, C. A. et al. Trans fatty acid-forming processes in foods: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 2, p. 343-350, 2007.

MERÇON, F. O que é uma gordura trans? **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 32, n.2, p. 78-83, 2010.

PADOVESE, R.; MANCINI-FILHO, J. Ácidos graxos trans. In: CURI, R. et al. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos.**1 ed. São Paulo: Manole, 2002. cap. 36, p. 509-521.

PESSOA, R. M. S.; GOIS, G. C.; CAMPOS, F. S. Fatores que interferem na composição lipídica dos tecidos muscular e adiposo em ruminantes. **Essentia**, Sobral, v. 17, n. 2, p. 87-111, 2016.

PFEUFFER, M.; JAHREIS, G. Trans fatty acids. Origin, metabolism, health risks. **Ernaehrungs Umschau International**, Wiesbaden, v. 65, n. 12, p. 196-203, 2018.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2013.

TEEGALA, S. M.; WILLETT, W. C.; MOZAFFARIAN, D. Consumption and health effects of trans fatty acids: a review. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 92, n. 5, p. 1250-1257, 2009.

WHO. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Genebra, 2003. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf?sequence=1. Acesso em: 14 nov. 2019.

WHO. **An action package to eliminate industrially-produced trans-fatty acids**. Genebra, 2018. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/replace-action-package.pdf. Acesso em: 14 nov. 2019.

WHO. **Policies to eliminate industrially produced trans fat**. Genebra, 2019a. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/replace-transfat/information-sheet-country-policies.pdf?Status=Temp&sfvrsn=1ffb36b6_2. Acesso em: 14 nov. 2019.

WHO. **Report on global trans fat elimination 2019 countdown to 2023. Executive summary**. Genebra, 2019b. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/who-report-on-tfa-elimination-2019-executive-summary.pdf?sfvrsn=a29269bd_2. Acesso em: 14 nov. 2019.

# CAPÍTULO 14

## ANÁLISE PARASITOLÓGICA DE HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES DE SALVADOR-BAHIA

*Data de aceite: 01/08/2021*

*Data de submissão: 06/07/2021*

**Rafael de Sá Barreto Leandro Cruz**
Centro Universitário Jorge Amado de Salvador – UNIJORGE, Departamento de Saúde, Salvador – Bahia
http://lattes.cnpq.br/3062885988330759

**Rebeca Bispo de Morais**
Centro Universitário Jorge Amado de Salvador – UNIJORGE, Departamento de Saúde, Salvador – Bahia.
http://lattes.cnpq.br/6236364107903479

**Cássia Cristina Leal Borges**
Centro Universitário Jorge Amado de Salvador – UNIJORGE, Departamento de Saúde, Salvador – Bahia.
http://lattes.cnpq.br/2036359435772211

**Paulo Leonardo Lima Ribeiro**
Centro Universitário Jorge Amado de Salvador – UNIJORGE, Departamento de Saúde, Salvador – Bahia. Universidade Federal da Bahia – UFBA, Departamento de Engenharia Química
http://lattes.cnpq.br/6136458132557415

**RESUMO:** A ingestão de hortaliças *in natura* apresenta potencial risco de contaminação parasitológica, caso práticas higiênico-sanitárias eficientes não sejam adotadas. O presente estudo investiga os principais parasitos contaminantes de hortaliças, comercializadas em feiras livres do município de Salvador, Bahia, e anuncia medidas que podem ser adotadas para eliminar os possíveis germes. Partindo-se de uma análise transversal, e um planejamento quali e quantitativo, coletaram-se unidades amostrais de alface crespa, rúcula e agrião em cinco feiras livres de distintas regiões do munícipio, sendo analisadas, por conseguinte, pelo método de sedimentação. Perante a totalidade de amostras de hortaliças, 83,3% apresentaram parasitos como cistos de *Entamoeba histolytica* (41%), ovo de *Ascaris* (14%), ovos de *Ancylostomideo* (9%) e cistos de *Giardia* (9%), além de outros organismos, como bactérias e ácaros. A feira de São Joaquim apresentou o maior grau de contaminação em detrimento das feiras do Nordeste de Amaralina; feira da Sete Portas; feira do Japão e feira municipal de Paripe**.** A alface apresentou 82% de parasitos (82%), seguido pelo agrião (64%) e rúcula (38%). Esta contaminação justifica-se, possivelmente pelos baixos padrões higiênico-sanitários no cultivo até na exposição para a venda. A adoção de boas práticas de higienização é fundamental para a eliminação desses parasitas.

**PALAVRAS - CHAVE:** vegetais, parasito, contaminação, infecção, higiene.

### PARASITOLOGICAL ANALYSIS OF VEGETABLES COMMERCIALIZED IN FREE FAIRS OF SALVADOR-BAHIA

**ABSTRACT:** Ingestion of fresh vegetables presents a potential risk of parasitological contamination if efficient hygienic-sanitary practices are not adopted. The present study investigates the main contaminating parasites of vegetables, sold in open markets in the city

of Salvador, Bahia, and announced measures can be adopted to eliminate possible germs. Starting from a cross-sectional analysis, and a qualitative and quantitative planning, sample units of crisp lettuce, arugula and watercress were collected in five open markets in different regions of the municipality, being analyzed, therefore, by the sedimentation method. In view of the totality of vegetable organisms, 83.3% dissipated from parasites such as *Entamoeba histolytica* cysts (41%), *Ascaris* egg (14%), *Ancylostomideo* eggs (9%) and *Giardia* cysts (9%), in addition to other organisms, such as bacteria and mites. The São Joaquim fair presented the highest degree of contamination to the detriment of the fairs in the Northeast of Amaralina; fair of the seven doors; Japan fair and Paripe municipal fair. Lettuce has 82% of parasites (82%), followed by watercress (64%) and arugula (38%). This contamination is justified, possibly by the low hygienic-sanitary standards in the cultivation even in the exhibition for sale. The adoption of good hygiene practices is fundamental for the elimination of these parasites.
**KEYWORDS:** vegetables, parasite, contamination, infection, hygiene.

## 1 I INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se observado uma crescente melhoria na qualidade da dieta da população brasileira, em virtude possivelmente do estilo de vida mais saudável aliado à busca pelo corpo ideal. Uma boa alimentação é ferramenta essencial para perfazer as necessidades nutritivas e metabólicas do organismo. Deste modo, recomenda-se a ingestão de quantidades significativas de alimentos *in natura*, destacando-se as frutas, verduras e hortaliças, as quais são potencialmente fontes de vitaminas A, C e do complexo B, minerais (P, Mg, K e Zn), fibras e compostos antioxidantes como antocianinas e carotenoides.

Segundo Catania *et al*. (2009), o consumo de alimentos *in natura* e/ou minimamente processados apresenta inúmeros benefícios à saúde do consumidor, auxiliando por sua vez nos sistemas imunológico, cardiovascular e tegumentar. Dentre os vegetais *in natura*, as hortaliças destacam-se como um dos produtos mais consumidos diariamente pelos indivíduos, em todo o mundo, com predominância para o agrião, rúcula, alface e couve, sendo entre eles, a alface o mais consumido.

Entretanto, poucas pesquisas avaliam a presença de estruturas parasitárias contaminantes de hortaliças comercializadas em feiras livres alocadas no Brasil. Deste modo, sabendo da magnitude das doenças provocadas por parasitas, torna-se necessário análises laboratoriais periódicas, as quais identifiquem a ocorrência desses microrganismos, e concomitantemente avaliem as condições higiênico-sanitárias do local de venda destes produtos (SILVA, SILVA e SOUZA, 2018).

No presente estudo, três importantes hortaliças são analisadas, a *Eruca sativa, Lactuca sativa crispa* e *Nasturtium officinale*. A *Eruca sativa*, conhecida popularmente como rúcula, destaca-se frente às demais hortaliças em função do elevado teor de ferro, apresentando também cálcio, fósforo, vitaminas A e C, beneficiando as propriedades

imunológicas, oftalmológicas e da pele. Já a *Lactuca sativa crispa*, denominada também de alface crespa, é rica em vitaminas E e K e apresenta grande quantidade de fibras, as quais auxiliam na cicatrização, combate aos radicais livres, excelência no funcionamento intestinal e regeneração muscular. O agrião (*Nasturtium officinale*) é rico em vitamina C e minerais, sublinhando-se o ferro. Seus talos são enriquecidos com iodo, tornando-se importantes na prevenção de problemas da tireoide como hipertireoidismo e bócio (BARBOSA, 2018).

Dentre os principais pontos de comercialização de hortaliças na cidade objeto deste estudo, Salvador, Bahia, as feiras livres se apresentam como um dos locais mais populares de compra e venda destes produtos. Entretanto, a qualidade microbiológica é, majoritariamente, deficitária nestes ambientes, apesar do aparente frescor dos produtos oferecidos. Segundo Quadros *et al*. (2008), os fatores determinantes para a contaminação destes alimentos, principalmente por parasitos, são as condições ecológicas e agrícolas precárias, ausência de práticas sanitárias no transporte e comercialização, aplicação de água e adubo contaminados e de má qualidade, e ausência de saneamento adequado nas áreas de plantio.

O conhecimento dos perigos físicos, químicos e biológicos envolvidos nos processos de cultivo e colheita de hortaliças, como adubos de má qualidade, água para irrigação contaminada, entre outros, é fundamental no que concerne aos produtores, a fim de garantir a obtenção de produtos de qualidade e microbiologicamente seguros (SILVA *et al*., 2015). Neste contexto, o agrião contém folhas múltiplas e separadas, com grande área de contato, gerando uma maior facilidade para adesão dos parasitas e enteroparasitas. Além disso, em relação à alface, muitos ovos de helmintos podem sobreviver por períodos de tempo mais prolongados no meio, devido a conformação do seu molho de folhas (AQUINO *et al*., 2006).

A contaminação por parasitoses pode acometer o estado nutricional dos indivíduos, permitindo obstrução intestinal, desnutrição, anemia e diarreia. Segundo Terto *et al*. (2014), os enteroparasitas com maior nível de prevalência são *Entamoeba histolytica; Giardia lamblia ou Eimeria*. Estes parasitas podem ocasionar redução da capacidade cognitiva, maior susceptibilidade a infecções, diminuição da biotransformação metabólica e má absorção de nutrientes (BISCEGLI *et al*., 2009).

A qualidade sanitária das hortaliças consumidas pela população tem sido avaliada frequentemente por estudos científicos nacionais e internacionais, e o risco de contaminação depende de todas as etapas envolvidas. Neste aspecto, estudos realizados no município de Patos, na Paraíba, mostram elevados índices de transmissão de doenças parasitárias através de hortaliças (CARVALHO *et al*., 2019). Belinelo *et al.* (2009), registraram em hortaliças comercializadas na Feira do Produtor, em Maringá, Paraná, 16% de enteroparasitas, e Soares e Cantos (2005) encontraram um índice de 21,4% em amostras coletadas na zona sul e norte da cidade do Rio de Janeiro. Neste contexto, o presente estudo investiga as estruturas parasitárias em hortaliças como alface crespa, rúcula e agrião comercializado em feiras livres do município de Salvador, Bahia, e anuncia importantes medidas higiênico-

sanitárias para a prevenção dos contaminantes microbianos, de modo a ampliar o grau de instrução acerca dos enteroparasitas, e amenizar os impactos negativos para a saúde pública.

## 2 | METODOLOGIA

O presente estudo classifica-se como quali-quantitativo, transversal, descritivo e analítico, e baseia-se na análise parasitológica de unidades amostrais de alface crespa, rúcula e agrião, as quais foram coletadas em cinco feiras livres de Salvador: a feira do São Joaquim, localizada na Avenida Fredérico Pontes, Comércio; feira do Nordeste de Amaralina, localizada na rua Reinaldo de Matos; feira da Sete Portas, localizada na avenida Cônego Pereira, Sete Portas; feira do Japão, localizada no bairro da Liberdade; e feira municipal de Paripe, localizada Avenida Afrânio Peixoto.

O método de Hoffman, Pons e Janer também conhecido como método de sedimentação lutz foi utilizado como ferramenta de análise (COURA e CONCEIÇÃO, 1974). Neste aspecto, as hortaliças foram coletadas a partir de duas bancadas distintas de cada feira livre, totalizando dez amostras de cada produto hortícola. A obtenção de amostras, advindas de diferentes locais, fundamentou-se no estabelecimento de um retrato da geografia mista e histórica do município de Salvador, haja vista a importância das feiras livres para uma grande maioria da população soteropolitana. Assim, as hortaliças (em triplicata) foram homogeneizadas com água destilada por cinco minutos em um homogeneizador Stomacher, modelo SP-190-SPLABOR e a mistura foi filtrada com gaze cirúrgica, permanecendo em repouso por 24 horas, para que houvesse a formação de uma sedimentação no fundo do recipiente. Posteriormente, o sedimento foi inserido em uma lâmina de vidro, e procedeu-se à técnica do esfregaço, de modo a possibilitar, por conseguinte, a observação e quantificação dos parasitos em microscópio biológico da marca Bel Pothonics, modelo B3, Laboratório 03 do Centro Universitário Jorge Amado.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perante a totalidade de amostras de hortaliças (alface, rúcula e agrião) analisadas, 83,3% destas apresentaram contaminação com importantes estruturas parasitárias, destacando-se cistos de *Entamoeba Histolytica* (41%), ovo de *Ascaris* (14%), ovos de *Ancylostomideo* (9%) e *Giardia* (9%), além de outros organismos microscópicos, como bactérias e ácaros (Quadro 1). Neste aspecto, atestou-se o poliparasitismo neste estudo, já que se determinou a ocorrência de mais de uma estrutura parasitária numa mesma lâmina, sendo os cistos de *Entamoeba Histolytica* e *Ascaris* as estruturas de maior ocorrência perante as três hortaliças e cinco feiras livres. Esse poliparasitismo é consequência das diversas contaminações devido a falta de higiene básica envolvendo todos os processos até a venda.

| Feira | Hortaliça | | |
|---|---|---|---|
| | AGRIÃO | ALFACE | RÚCULA |
| Feira de São Joaquim | **AMOSTRA I**<br>Ovos de *Ascaris*<br>Ovos de *Toxocaras*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Bactérias<br>**AMOSTRA II**<br>Ovos de *Toxocaras*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Bactérias<br>Sujeiras | **AMOSTRA I**<br>Ovos de Ascaris<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Bactérias<br>**AMOSTRA II**<br>Ovos de *Ancylostomideos*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica* | **AMOSTRA I**<br>Ovos de *Toxocaras*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Bactérias<br>**AMOSTRA II**<br>Ovos de *Ascaris*<br>Sujeiras |
| Feira da Liberdade | **AMOSTRA I**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Ovos de *Ascaris*<br>Bactérias<br>**AMOSTRA II**<br>Ovos de *Ascaris*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica* | **AMOSTRA I**<br>Ovos de *Ascaris*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Bactérias<br>**AMOSTRA II**<br>Bactérias | **AMOSTRA I**<br>Ovos de *Ascaris*<br>**AMOSTRA II**<br>Bactérias |
| Feira da Sete Portas | **AMOSTRA I**<br>Sujeiras<br>**AMOSTRA II**<br>Larva de *Ancylostomideo*<br>Cistos de *Entamoeba histolytica* | **AMOSTRA I**<br>Cistos de *Entamoeba Histolytica*<br>Larva de *Ancylostomideo*<br>Ovo de *schistosoma*<br>Bactérias<br>**AMOSTRA II**<br>Ovo de *Ancylostomideo*<br>Cisto de *Entamoeba histolytica* | **AMOSTRA I**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>**AMOSTRA II**<br>Cisto de *Entamoeba histolytica* |
| Feira de Amaralina | **AMOSTRA I**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br><br>**AMOSTRA II**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica* | **AMOSTRA I**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>*Giardia*<br>**AMOSTRA II**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>Ovo de *Ascaris* | **AMOSTRA I**<br>Sujeira<br>**AMOSTRA II**<br>Sujeira |
| Feira do Uruguai | **AMOSTRA I**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>**AMOSTRA II**<br>Sujeiras | **AMOSTRA I**<br>Cisto de *Entamoeba histolytica*<br>**AMOSTRA II**<br>Cistos de *Entamoeba histolytica*<br>*Giardia* | **AMOSTRA I**<br>Sujeira<br>**AMOSTRA II**<br>Ácaros<br>Bactérias |

**Quadro 1.** Estruturas parasitárias e outras sujidades identificadas em unidades amostrais de alface, rúcula e agrião comercializadas em feiras livres de Salvador/BA.

**Fonte:** Autoria própria (2018).

A partir da análise das amostras de agrião, alface e rúcula, coletadas nas cinco feiras livres, a alface foi a hortaliça que apresentou o maior grau de contaminação por parasitas (Gráfico 1), com prevalência dos cistos de *Entamoeba Histolytica*, seguido de ovos de *Ascaris*, ovo de *Ancylostomideo* e cistos de *Giárdia*, larva de *Ancylostomideo* e ovos de

*Schistosoma*. A prevalência desses parasitas pode ser justificada pela contaminação através da irrigação por água contaminada ou compartilhamento dos mesmos locais de instalação do verme.

Pires *et al.* (2014) evidencia a elevada contaminação da alface crespa (*Lactuca sativa*) em comparação com outras hortaliças, como a alface lisa devido a sua maior dificuldade e maior necessidade no cuidado da limpeza, devido à conformação de suas folhas, a qual dificulta o processo de higienização.

A presença de enteroparasitas indica a contaminação fecal de origem humana e de origem animal, assim como *Ascaris lumbricoides* e *Entamoeba histolytica*, tendo em vista que esses parasitas acometem seres humanos e animais (LEÃO *et al*., 2018). Neste contexto, mesmo não sendo possível a identificação das espécies do *Ancylostoma duodenale e o Necator americanus,* os quais têm a capacidade de causar ao homem uma doença denominada de amarelão, a qual possui consequências consideradas perigosas à saúde humana, destacando-se a anemia, hipoproteinemia, podendo ocorrer insuficiência cardíaca e edema (REY, 2001). Além disso, a migração da larva através dos pulmões pode causar hemorragia e pneumonite. Adicionalmente, ancilostomatídeo de cão ou gato pode provocar no homem a síndrome da larva migrans cutânea, denominada também de bicho geográfico, podendo causar irritação na pele e coceira, além de subtrair do indivíduo a energia necessária para sua sobrevivência (ALVES e PROENÇA).

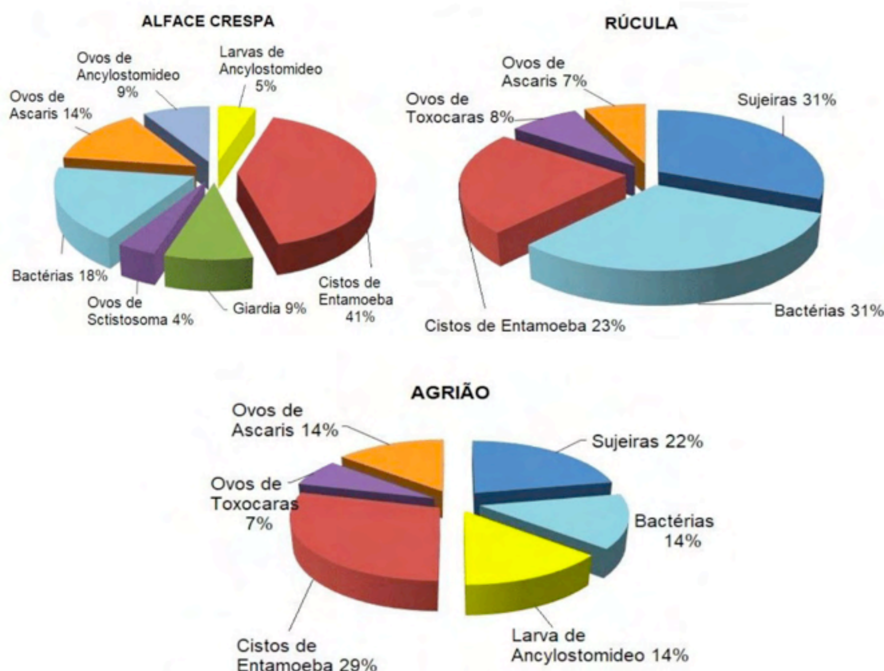
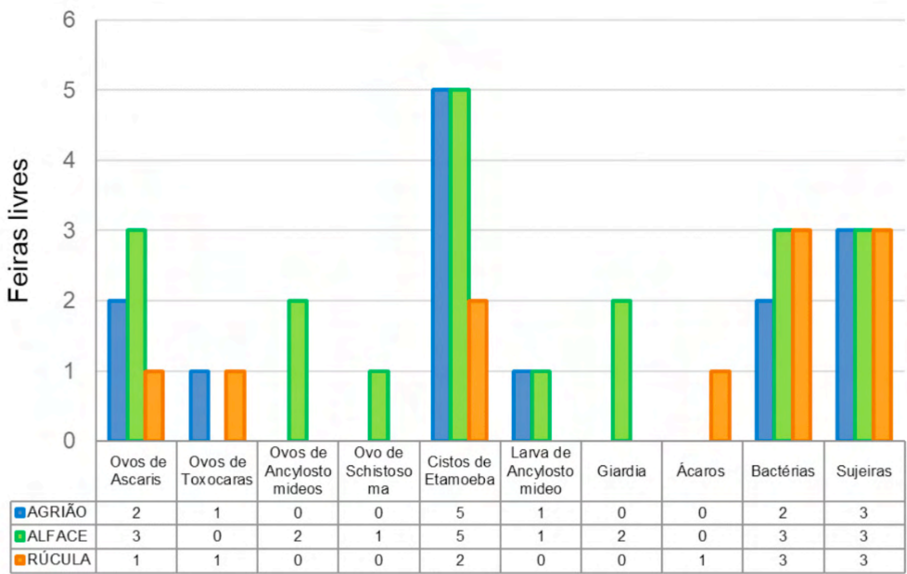



**Gráfico 1.** Grau de contaminação, em percentual, da alface crespa (A), rúcula (B) comercializada em feiras livres de Salvador/BA.

Dentre as feiras analisadas, a feira livre de São Joaquim apresentou a maior quantidade de parasitos perante as hortaliças coletadas, destacando-se os ovos de Ascaris; *Toxocaras e de Ancylostomideos;* cistos de *Entamoeba histolytica;* bactérias e sujeiras (Quadro 1, Gráfico 2). Este aspecto pode ser justificado em função das condições precárias de higiene do local de venda, qualidade microbiológica da água e condições de cultivo. Na feira de São Joaquim, o cisto de *Entamoeba histolytica* destacou-se de modo quantitativo em relação aos demais parasitos, podendo ocasionar graves sintomas gastrointestinais, como diarreia sanguinolenta.




| | Ovos de Ascaris | Ovos de Toxocaras | Ovos de Ancylosto mideos | Ovo de Schistoso ma | Cistos de Etamoeba | Larva de Ancylosto mideo | Giardia | Ácaros | Bactérias | Sujeiras |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AGRIÃO | 2 | 1 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| ALFACE | 3 | 0 | 2 | 1 | 5 | 1 | 2 | 0 | 3 | 3 |
| RÚCULA | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 |

**Gráfico 2.** Representação da incidência dos parasitas perante as amostras de alface, agrião e rúcula, coletadas nas feiras livres analisadas.

Desta forma, a fim de evitar a ocorrência de infecções microbianas parasitológicas, o consumo de hortaliças requer importantes cuidados, principalmente, no que concerne ao processo de limpeza e sanitização. O centro de vigilância sanitária (CVS) nº 5/2013 recomenda que a limpeza de hortifrutigranjeiros seja realizada em local apropriado com água potável, e a sanitização com hipoclorito de sódio numa concentração de 100 a 250 ppm, com tempo de contato de 15 a 30 minutos (BRASIL, 2013; SANTOS e MURATOR, 2012). Os compostos clorados apresentam baixo custo, fácil utilização e enxágue, boa resistência a imersão e boa estabilidade química (SÃO JOSÉ, 2017). Salienta-se também que após o processo de higienização, os produtos alimentícios em estudo devem ser enxaguados e preferencialmente secos antes do consumo.

Oliveira (2005), ao analisar os métodos de higienização de vegetais empregados em restaurantes de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, após os tratamentos com hipoclorito de

sódio, durante 30 minutos, verificou que houve um decréscimo nas contagens de coliformes termotolerantes, em relação à população inicial das amostras de alface analisadas, comprovando a eficácia desse método sanitizante. Nascimento *et al.* (2003), obtiveram resultados semelhantes ao analisar a eficácia do hipoclorito a 200 ppm na higienização de uvas, em que todas as suas amostras demonstraram a diminuição de coliformes termotolerantes comparados a contagem inicial (CHAVES *et al.*, 2016)

O ácido peroxiacético também pode ser utilizado como alternativa aos compostos clorados na higienização de frutas e hortaliças. Este ácido é produzido através da reação entre ácido acético ou anidrido acético com peróxido de hidrogênio na presença de ácido sulfúrico, que tem função de catalisador da reação. Trata-se de um agente oxidante forte e desinfetante, com potencial oxidativo maior que o do cloro e do dióxido de cloro (OLIVEIRA, 2005).

A utilização de novas técnicas como ozônio, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro e ácidos orgânicos tem sido proposta por alguns pesquisadores para desinfecção de hortaliças, as mesmas podem ser associadas ou não a forma tradicional. Todavia para garantir o as características nutricionais e sensoriais dos alimentos e também assegurar que não oferecerá riscos microbiológicos, é preciso de uma avaliação cautelosa (OLIVEIRA, 2005).

## 4 | CONCLUSÃO

A finalidade do artigo de atestar a necessidade da sanitização correta das hortaliças foi confirmada após a análise das amostras e a constatação da presença de ovos, cistos e larvas de parasitas nas mesmas. Dentre as feiras investigadas, a Feira de São Joaquim destacou-se perante a maior prevalência de contaminação por parasitas, com predomínio do cisto de *Entamoeba Histolytica*. Neste sentido, os resultados evidenciaram baixos padrões higiênico-sanitários das feiras livres pesquisadas, em função do alto percentual de parasitos e contaminantes presentes nas hortaliças. Deste modo, à nível de obrigação pública, é necessário que haja um aumento na quantidade de monitoramento da vigilância sanitária, tanto em feiras livres quanto em mercados envolvendo todas as etapas do processo. Além disso, com a observação das condições de higiene das bancadas de exposição e dos recipientes de armazenamento das hortaliças, torna-se fundamental a observância do cumprimento da legislação vigente e a detecção das condições de risco à saúde pública em relação ao fluxo de produção, manipulação e venda de hortaliças.

A utilização de filtros de água na irrigação, instalação de fossas e redes de esgoto, aplicação de programas de educação extensiva para os vendedores das hortaliças e o fortalecimento do sistema de vigilância sanitária para a fiscalização das bancadas podem ser alternativas aplicáveis em feiras e mercados de hortaliças, a fim de alertar os riscos dos perigos biológicos e melhorar a qualidade microbiológica destes produtos.

## REFERÊNCIAS


ALVES, C.; PROENCA, V. Larva migrans cutânea: um caso de apresentação típica no viajante**. Ver. Port. Med. Geral Fam.**, Lisboa, v. 28, n. 2, p. 136-138, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext& pid=S2182-51732012000200009&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 10 out. 2018.

AQUINO, L.A.; PUIATTI, M.; PEREIRA, P.R.G.; PEREIRA, F.H.F.; LADEIRA, I.R.; CASTRO, M.R.S. Produtividade, qualidade e estado nutricional da beterraba de mesa em função de doses de nitrogênio. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 199-203, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0102-05362006000200015>. Acesso em: 07 out. 2018.

BARBOSA, C. **Catálogo brasileiro de hortaliças: saiba como plantar e aproveitar 50 das espécies mais comercializadas no país**. Embrapa, Brasília: Embrapa Hortaliças, SEBRAE, 2010, 59p. Disponível em: <https:// ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/194354/1/Catalogo-hortalicas.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2019.

BELINELO, V.J.; GOUVÊIA, M.I.; COLEHO, M.P., ZAMPROGNO, A.C.; FIANCO, B.A.; OLIVEIRA, L.G.A. Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na cidade de São Mateus, ES. **Arq. Ciên. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 13, n. 1, p. 33-36, 2009. Disponível em: <https://http://revistas. unipar.br/index.php/saude /article/view/2794>. Acesso em: 05 out. 2018.

BISCEGLI, T.S.; ROMERA, J.; CANDIDO, A.B.; SANTOS, J.M.; CANDIDO, E.C.A.; BINOTTO, A.L. Estado nutricional e prevalência de enteroparasitoses em crianças matriculadas em creche. **Rev. Paul. Pediatr.**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 289-295, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0 10305822009000300009&script=sci_abstract& tlng=pt>. Acesso em: 16 ago. 2018.

BRASIL. Secretaria de Estado da Saúde. Portaria CVS nº 5 de 09 de abril de 2013. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção, anexo. **Diário Oficial do Estado**, São Paulo, 5 de abril de 2013. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/PORTARIA%20CVS-5_090413.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2019.

CARVALHO, D.A.; MIRANDA, M.M.A.; SILVA, M.A.B.; FILHO, A.A.O. Análise Parasitológica de Amostras de Alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Patos-PB. **Rev. UNINGÁ**, Maringá, v. 56, n. 1, p. 131-139, 2019. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/view/1748/1890>. Acesso em: 15 Jul. 2019.

CATANIA, A.S.; BARROS, C.R.; FERREIRA, S.R.G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 550-559, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext& pid=S0004-2730200900 0500008>. Acesso em: 13 out. 2018.

CHAVES, Q.S.; SILVA, T.C.; NASCIMENTO, R.S.; SÁ, R.L.; FORTUNA, J.L. Avaliação de métodos para higienização de alface (*Lactuca sativa* L. VAR CRISPA). **Ciênc. & Tec.: FATEC-JB**, Jaboticabal, São Paulo, v. 8, 2016. Disponível em: <http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/viewFile /853/pdf>. Acesso em: 28 nov. 2018.

COURA, J.R.; CONCEIÇÃO, M.J. Estudo comparativo dos métodos de Lutz, Kato e Simões Barbosa no diagnóstico cropológico da esquistossomose mansoni. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 8, n. 3, p. 153-158, 1974. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php? script=sci_arttext&pid=S0037-86821974000300003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 24 nov. 2018.

LEÃO, R.C.; GONÇALVES, A.C.; SANTOS, C.T.B.; ANDRADE, A.A.; SILVA, M.C.S.; SILVA, M.B.O. Ocorrência de enteroparasitos e coliformes termotolerantes nas mãos de manipuladores de alimentos de um hospital de ensino. **Cad. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 211-215, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-462X2018000200 211&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 10 out. 2018.

NASCIMENTO, M.S.; SILVA, N.; CATANOZI, M.P.L.M.; SILVA, K.C. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. Braz. **J. Food Technol.**, São Paulo, v. 6, p. 63-68, 2003. Disponível em: <http://bj.ital. sp.gov.br/artigos/html/ busca/PDF/v6nu113p.pdf>. Acesso em: 12 out. 2018.

OLIVEIRA, A.B. **comparação de diferentes protocolos de higienização de alface (*Lactuca sativa*) utilizados em restaurantes de Porto Alegre – RS**. Porto Alegre, Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005, 75p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183 /5885/000477171.pdf?sequence=1>. Acesso em: 12 out. 2018.

PIRES, D.R.; THOMÉ, S.M.G.; COELHO, P.S.G.; SANTOS, H.A.; AZEVEDO, L.A.; FRECHETTE, M.F.; PIRES, M.S.; ABBOUD, L.C.S. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas no município do Rio de Janeiro (RJ). **Semina: Ciênc. Biol. Saúde**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 1, p. 35-48, 2014. Disponível em: <http://www.uel.br>. Acesso em: 15 nov. 2018.

QUADROS, R.M.; MARQUES, S.M.T.; FAVARO, D.A.; PESSOA, V.B.; ARRUDA, A.A.R.; SANTINI, J. Parasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) de mercados e feiras livres de Lages - Santa Catarina. **Rev. Ciênc. & Saúde**, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 78-84, 2008. Disponível em: <http://revistas eletronicas. pucrs.br>. Acesso em: 17 set. 2018.

REY, L. Um século de experiência no controle da ancilostomíase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**., Uberaba, v. 34, n. 1, p. 61-67, 2001. Disponível em: <http://www. scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003786822001000 100010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10 out. 2018.

SANTOS, H.S.; MURATOR, M.C.S. Avaliação da eficácia da água sanitária na sanitização de alfaces (*Lactuca sativa*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 56-60, 2012. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs. br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552012000100008&ln g=pt&nrm =iso>. Acesso em: 12 out. 2018.

SÃO JOSÉ, J.F.B. Estratégias alternativas na higienização de frutas e hortaliças. **Rev. de Ciênc. Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 3, p. 630-640, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo. phpscript=sci_arttext&pid =S0871018X2017000300015&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 12 out. 2018.

SILVA, M.B.; SILVA, L.G.; SOUZA, G.C. Hortaliças orgânicas: alimentos saudáveis ou um risco à saúde? **Semina: Ciênc. Biol. Saúde***, Londrina, v. 39, n. 2, p. 119-128, 2018. Disponível em:* <http://www.uel.br/revistas/uel/index. php/seminabio/article/view/31792>. Acesso em: 21 jul. 2019.

SILVA, W.F.; MARQUES, D.J.; SILVA, E.C.; BIANCHINI, H.C.; ISHIMOTO, F.A.; JÚNIOR, M.J.F.P. Diagnóstico da produção de hortaliças na região metropolitana de Belo Horizonte. **Hortic. Bras**., Vitoria da Conquista, v. 33, n. 3, p. 368-372, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/hb/v33n3/0102-0536-hb-33-03-00368.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2018.

SOARES, B.; CANTOS, G.A. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol**., São Paulo, v. 8, n. 4, p. 377-384, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v8n4/04.pdf>. Acesso em: 03 nov. 2018.

TERTO, W.D.S.; OLIVEIRA, R.G.; LIMA, M.M. Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa* L.) comercializadas em Serra Talhada, Pernambuco, Brasil. **Vigilân. Sanit. em Deb.**, Pernambuco, v. 2, n. 3, p. 51-57, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net>. Acesso em: 08 out. 2018.

# CAPÍTULO 15

# CONHECIMENTO DOS CLIENTES DE UM SUPERMERCADO SOBRE HIGIENIZAÇÃO DE HORTIFRUTIS

*Data de aceite: 01/08/2021*

**Licia Maria Amaral Albuquerque**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**Mirella Castro Dantas**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**Eliane Costa Souza**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**RESUMO:** As hortaliças e frutas são alimentos importantes para a saude do organismo humano, pois estes são ricos em vitaminas e minerais, porém, são alimentos propícios a serem contaminados por microorganimos patogenicos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o conhecimento do consumidor sobre a higienização dos hortifrutis. A pesquisa foi realizada em um supermercado da cidade de Maceió, AL, onde foi disponibilizado um questionário na área de comercialização dos hortifrutis. Participaram expontaneamente da pesquisa 42 clientes, destes 59, 5% eram do sexo feminino. No quesito você higieniza seus hostifrutis 95, 24% responderam que sim, no tipo de método que utilizam para a higienização dos hortifrutis 60% responderam água mais água sanitaria e em relação ao conhecimento dos riscos a saúde em não higienizar corretamente os hortifrutis, 70% responderam que conhecem. É evidente a falta de informações a cerca dos métodos (produtos) que podem ser utlizados pela população, para higienização dos hortifrutis.
**PALAVRAS - CHAVE:** Alimentos saudáveis. Doenças de origem alimentar. Higiene.

**ABSTRACT:** Vegetables and fruits are important foods for the health of the human organism, as these are rich in vitamins and minerals, but they are foods conducive to be contaminated by pathogenic microorganimos. The objective of this research was to evaluate the consumer's knowledge about the hygiene of the vegetables. The research was carried out in a supermarket in the city of Maceió, AL, where a questionnaire was made available in the area of commercialization of the horticultural. Forty-two clients participated spontaneously in the study, of which 59, 5% were female. In the question you sanitize your hostiles 95, 24% answered that yes, in the type of method they use for the hygiene of the horticultural 60% answered water plus sanitary water and in relation to the knowledge of health risks in not properly sanitizing the vegetables, 70% answered that they know. It is evident the lack of information about the methods (products) that can be used by the population, for the hygiene of the vegetables.
**KEYWORDS:** Healthy foods. Diseases of food origin. Hygiene.

## 1 I INTRODUÇÃO

A nutrição, ciência que busca a interação dos alimentos e sua funcionalidade nos organismos vivos, e esta funcionalidade está diretamente relacionada a ingestão de alimentos

saudáveis que irão proporcionar uma longevidade maior e evitar várias doenças cronicas não transmissíveis, como hipertensão, diabetes e obesidade (BARBOSA; FRANZ, 2012).

Dentre os alimentos que propiciam uma alimentação saudável, encontam-se as hortaliças e frutas, pois estes são ricos em vitaminas e minerais, fibras e muitos compostos bioativos com, licopeno, reverastrol, flavanoides, etc. importantes para o organism humano (FAO, 2012).

Porém, as frutas e hortaliças possuem uma contaminação microbiologica inicial, que advém do ambiente, as técnicas utilizadas no cultivo, no transporte e armazenamento (ORMOND, et al., 2002; ROSA; CARVALHO, 2000).

O consumo destes alimentos de forma crua desempenha um importante papel na transmissão de várias doenças e os s riscos que afetam a segurança dos alimentos podem estar presentes em qualquer ponto da cadeia produtiva desde o cultivo, a colheita, a lavagem, armazenamento, transporte, comercialização e finalmente na mesa do consumidor (RANTHUM, 2001).

Observa-se que ocorreu mudanças nos padrões de consumo desses produtos durante a última década e a busca por alimentos saudáveis tem aumentado cada vez mais e consequentemente os consumidores têm exigido produtos que possuam boa qualidade microbiologica e que sejam mais fáceis para preparar e consumir (BEZERRA et al., 2013).

A qualidade sanitária das frutas e hortaliças correlaciona-se com a presença de micro-organismos deteriorantes e patogênicos que podem reduzir a vida útil e causar doenças de origem alimentar ao consumidores respectivamente (SÃO JOSÉ, 2017)

O processo de lavar e desinfetar, são etapas que podem reduzir de forma signignificativa a carga microbiana de forma que gere a segurança do produto. A importância da qualidade e de responsabilidade social vem aumentando consideravelmente no mercado de alimentos (VIEIRA; BUAINAIN; SPERS, 2010).

Os compostos clorados são usados constantemente na higienização, porém, existe interesse em usar outros produtos, uma vez que estes geram resíduos tóxicos (trihalometanos) em contato com a matéria orgânica em processo de decomposição (SÃO JOSÉ, 2017).

Nota-se que o setor agroalimentar tem buscado estratégias para conquistar a confiança do consumidor no que diz respeito à qualidade, à procedência e à segurança dos alimentos na produção final (Vieira et al, 2010).

O papel do consumidor é fundamental no que tange à segurança dos alimentos, no controle de produção, garantia de origem, certificação de qualidade, rotulagem, entre outros (VIEIRA; BUAINAIN; SPERS, 2010).

Esse estudo teve como objetivo verificar o conhecimento a cerca da higienização dos hortifrutis dos clientes de um supermercado localizado na cidade de Maceió/AL.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODO

O presente estudo foi realizado com os clientes de um supermercado localizado na cidade de Maceió/AL. Foi elaborada um questionário contendo quarto perguntas objetivas, com alternativas para o cliente marcar um X na opção escolhida: Qual seu sexo? opções de resposta (masculino, feminino e prefiro não informar; Você higieniza os hortifutis? opções de resposta (sim e não); Qual o método que você utiliza na higienização dos hortifrutis? opções de resposta (água e água sanitaria, água e vinagre, água e sabão e outros produtos); Você conhece os possíveis riscos para a saúde pela ausência da higienização correta dos hortifrutis? opções de resposta (conheço e não conheço). A pesquisa foi disponibilizada impressa em papel oficio A4 juntamente com uma caneta de cor azul em cima de uma bancada na area de comercialização de frutas e hortaliças. Foi colocado um banner de exposição contendo informações a cerca da pesquisa e convidando os clientes a partciciparem. Não ocorreu a presença dos pesquisadores.

Esta pesquisa ficou disponivel na área de comercialização dos hortifrutis em um dia de sábado do mês dezembro de 2020, no horário matutino e vespertino (8 ás 18h). Após o tempo estipulado, os pesquisadores foram até a bancada e recolheram os questionários. As respostas foram compilados no programa Excel 2010.

Após os resultados da pesquisa, foram elaborados e disponibilizados, na área de comecialização dos hortifrutis, folders disponiveis aos clientes contendo o modo correto de higienização dos hortifrutis e a importância desta etapa para a saúde do consumidor.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram expontaneamente da pesquisa 42 clientes. Destes 59, 5% (n= 25) eram do sexo feminino e 40, 5% (n=17) do sexo masculino (Gráfico 1).

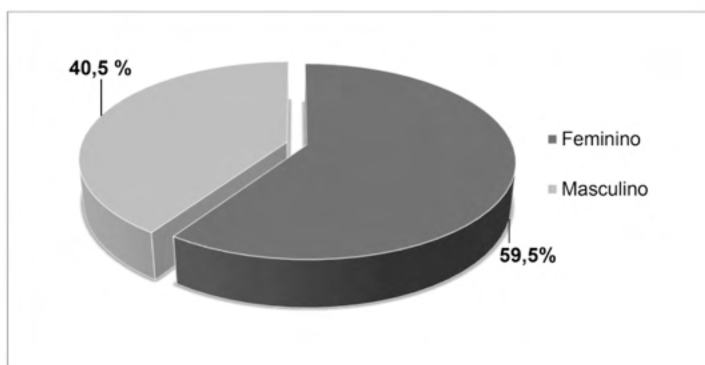



Gráfico 1. Percentual do sexo dos participantes da pesquisa para avaliar o conhecimento do consumidor sobre a higienização dos hortifrutis, em um supermercado da cidade de Maceió/AL.

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

No quesito você higieniza seus hortifrutis 95, 24% (n=40) responderam sim, e 4, 76% (n=2) responderam não (Gráfico 2).

Os clientes que responderam não, são do sexo masculino, evidenciando que dos 17 clientes do sexo masculino, 12% (n=2) deste grupo possuem uma preocupação menor em relação a qualidade sanitária do produto ou ignoram os benefícios para a saúde que a higienização desses alimentos propociona para minimizar a presença de micoorganismos patogênicos capazes de causar doenças de origem alimentar.

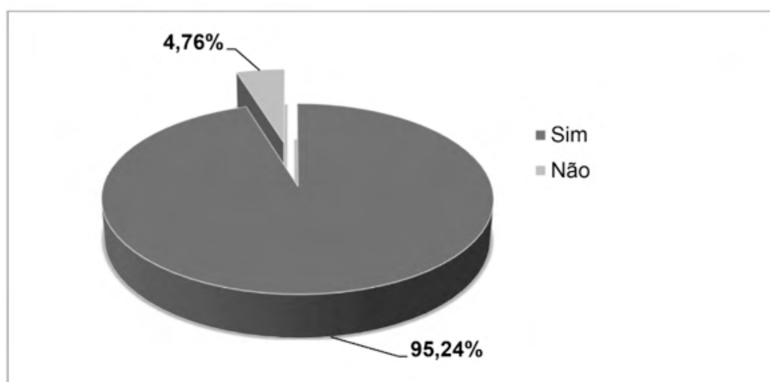



Gráfico 2. Percentual dos clientes de um supermercado da cidade de Maceió/AL, que higienizam ou não seus hortifrutis.

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Na pergunta relacionada aos métodos utilizados na higienização dos hortifrutis, os resultados foram: 60% (n=24) água e água sanitaria, 20% (n=8) apenas água, 10% (n=4) água e vinagre e 10% (n=4) água e sabão (Gráfico 3).

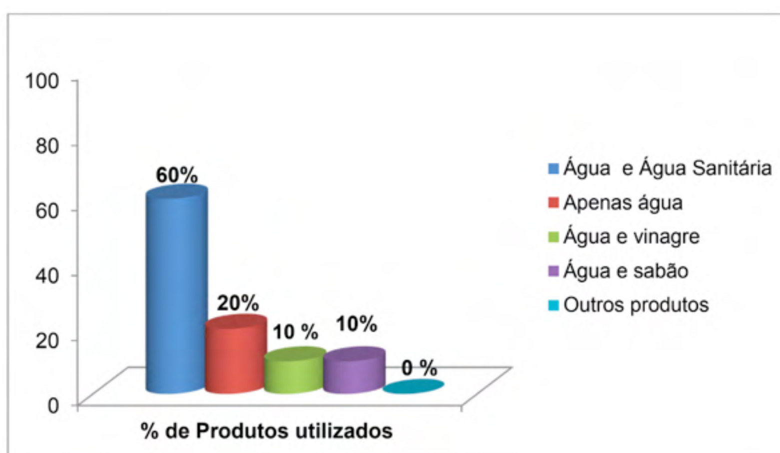



Gráfico 3. Percentual dos produtos utilizados para higienizar os hortifrutis pelos clientes de um supermercado da cidade de Maceió/AL,

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Dentre as soluções desinfetantes existentes no mercado brasileiro, as mais utilizadas são as à base de cloro (PEREIRA et al., 2011). O hipoclorito de sódio (água sanitária) é o mais empregado devido ao seu baico custo, sua ação rápida, fácil aplicação e completa dissolução em água (SREBERNICH, 2007).

Higienizar os hortifrutis com produtos a base de cloro, como a água sanitaria que possui em sua composição 2,0 a 2,5% p/p de cloro ativo sendo um desinfetante capaz de eliminar todas as formas vegetativas de microrganismos, principalmente bactérias patogênicas e virus que causam doenças de origem alimentar, é de suma importância para garantir uma condição sanitaria aduquada para ingestão desses alimentos, não vindo a causar desta forma problemas de saúde ao consumidor (BRASIL, 2009; CONSEA, 2004).

O vinagre possui um grau de acidez considerado fraco e sem nenhuma ação bactericida, portanto higienizar os alimentos com vinagre pode ser eficiente para acabar com sujeiras, pequenas larvas e ovos de insetos, porém não elimina micoorganismos patogenicos que causam doenças de origem alimentar (NUNES, 2018).

A utilização da água ou a agua com sabão são utilizadas nos alimentos para remover sujidades visíveis na superfície e uma pequena fração dos microorganismos, porém não elimina a grande maioria destes, geralmente são utilizadas para alimentos que posteriormente sofrerão algum tipo de tratamento térmico, mas, para aliemntos que serão ingeridos crus é necessária a utilização de um produto sanitizante (como o cloro) (SILVA,

Dos 60% dos clientes que responderam que higienizam os hortifrutis com água e água sanitaria, 20 deles são do sexo feminino e 4 do sexo masculino, já os 20% que utilizam apenas água são do sexo masculino. Os 10% que utilizam água e vinagre são do sexo feminino, e os que higienização com água e sabão foram 1 e 4 do sexo feminino e masculino respectivamente (Quadro 1.)

Verifica-se no Quadro 1, que 11 (73%) dos 15 (100%) clientes do sexo masculino utilizam métodos (apenas água, água e vinagre e água e sabão) que não são eficientes para a higienização dos hortifrutis.

Já as clientes do sexo feminino, 4 (16%) das 25 (100%) utilizam métodos (apenas água, água e vinagre e água e sabão) que não são eficientes, demostrando dessa forma um conhecimento bem maior sobre a eficiência dos métodos adequados para higienização destes alimentos. Isso já era esperado visto que as mulheres, na sua grande maioria, são tradicionalmente responsaveis pela elaboração das refeições, e consequentemente conhecem e utilizam os métodos (produtos) mais adequados para a realização da higienização.

| SEXO | PRODUTOS UTILIZADO PARA HIGIENIZAÇÃO | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Água e água sanitaria (24 clientes) | Apenas água (8 clientes) | Àgua e vinagre (4 clientes) | Água e Sabão (4 clientes) |
| Feminino | 20 | 0 | 4 | 1 |
| Masculino | 04 | 08 | 0 | 3 |

Quadro 1. Número dos clientes por sexo, de um supermercado da cidade de Maceió/AL, que utilizam os diversos produtos para higienização dos hortifrutis.

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Em relação a pergunta, se o cliente conhece os possíveis riscos a saúde em não higienizar corretamente os hortifrutis, as respostas foram: 70% (n=28) conhecem e 30% (n=12) não conhecem (Gráfico 4).

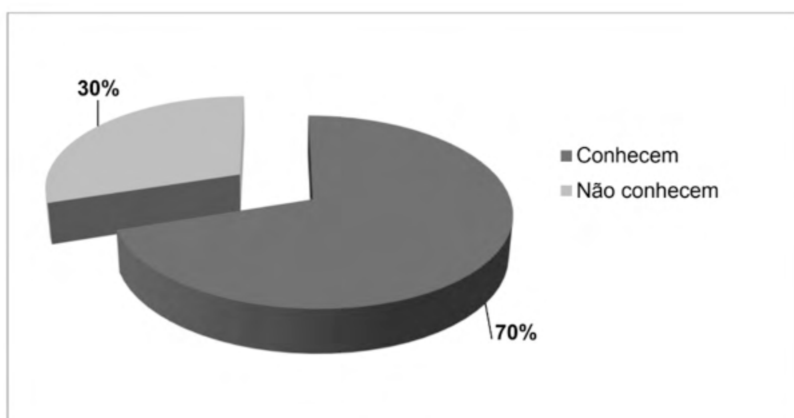



Gráfico 4. Percentual dos clientes de um supermercado da cidade de Maceió/AL, que conhecem ou não os possíveis riscos a sáude por não higienizar os hortifrutis.

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Apesar de surtos de de origem alimentar estarem associados a produtos de origem animal,, uma revisão realizada pelo centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA indicou hortifrutis representam o mesmo risco de contaminação, devido às condições de cultivo, colheita, armazenamento e distribuição dos mesmos.

Os microorganismos patogênicos capazes de promover doenças alimentares são bactérias, vírus e parasitas, sendo preocupante o número de internamentos de pessoas soas com risco de infecção a nível mundial (THINEY, 2001).

Portanto, higienizar os hortifrutis adequadamente é imprecindível para que as doenças de origem alimentar não sejam um problema tão grave de saúde pública.

## 4 I CONCLUSÃO

Fica evidente a falta de informações a cerca dos métodos (produtos) que podem ser utlizados pela população, para higienização dos hortifrutis. Portanto, seria muito importante uma divulgação maior da mídia e dos profissionais de saúde sobre a importância da higienização dos alimentos com o objetivo de evitar surtos de origem alimentar na população em geral.

## REFERÊNCIAS


BARBOSA, M. A.; FRANZ, L. B. B. **importância da alimentação saudável ao longo da vida refletindo na saude do idoso.** Departamento de Ciências da vida, Pós graduação lato sensu, em nutrição clínica, Universidade Regional do Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, 2012. Disponivel: https://bibliodigital.unijui.edu.br:8443/xmlui/handle/123456789/1045. Acesso em: maio. 2020.

BEZERRA, I.N. et al. Consumo de alimentos fora do domicílio no Brasil**. Rev. Saúde Pública**, v. 47, p. 200-215, fev. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO Nº 55, DE 10 DE NOVEMBRO DE 2009. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Produtos Saneantes Categorizados Como Água Sanitária e Alvejantes à Base de Hipoclorito de Sódio ou Hipoclorito de Cálcio e dá outras providências. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/res0055_10_11_2009.html. Acesso em: 23 abr. 2020.

CONSEA. II Conferência Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional - Relatório Final. Centro de Convenções de Pernambuco – Olinda, 17 a 20 de março de 2004.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. Estatísticas FAO, 2012.

ORMOND, J. G. P. et al. Agriculturaorgânica: quando o passado é futuro. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, mar. 2002.

PEREIRA, A.P.M.; WERLE, C.H.; GONÇALVES, T.M.V.; HOFFMANN, F.L.Identificação e avaliação da resistência antimicrobiana de leveduras em vegetais minimamente processados. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.2, p.139-43, 2011.

RANTHU, M. A. **Subnotificação e Alta Incidência de Doenças Veiculadas por Alimentos e de seus Fatores de Risco: causas e consequências no município de Ponta Grossa - PR**. Dissertação, Fundação Oswaldo Cruz. 2001. Disponível: https://teses.icict.fiocruz.br/pdf/ranthummam.pdf. Acesso em 20 maio. 2020.

ROSA, O.O.; CARVALHO, E.P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processadas. **Boletim SBCTA**, v.34, n.2, p.84-92, 2000.

SÃO JOSÉ, J. F. B. Estratégias alternativas na higienização de frutas e hortaliças. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, p. 630-640, 2017.

SILVA, R.L.C. **Verduras contaminadas com bactérias: água, vinagre ou clorados?**. Profª Lucia Gangussu. Microbiologia. 2018. Disponível em: https://www.luciacangussu.bio.br/artigo/verduras-contaminadas-com-bacterias-agua-vinagre-ou-clorados/ Acesso em: 20 maio. 2020.

SREBERNICH, S.M. Utilização de dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.744-50, 2007.

THINEY, P. A. O. I**solamento e caracterização bioquímica e molecular de Escherichia coli em amostras de alfaces e de suas água de irrigação**. 2001. 84 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

VIEIRA, A.C.P.; BUAINAIN, A. B.; SPERS, E. E. **Cadernos de Direito,** Piracicaba, v. 10, n.19, p. 21-37, jul.-dez. 2010.

NUNES, A. C. **Lavar os alimentos com vinagre elimina completamente as bactérias?.** Check-up viva bem UOL**.** 2018. Disponível em: https://www.uol.com.br/vivabem/noticias/redacao/2018/07/11/lavar-os-alimentos-com-vinagre-elimina-bacterias.htm. Acesso em: 20 maio. 2020.

# CAPÍTULO 16
## AVALIAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA ADEQUAÇÃO NUTRICIONAL DAS REFEIÇÕES OFERECIDAS AOS TRABALHADORES CONTEMPLADOS PELO PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO DO TRABALHADOR: UMA REVISÃO DE LITERATURA

*Data de aceite: 01/08/2021*
*Data de submissão: 18/06/2021*

**Cibele Maria de Araújo Rocha**
Centro Universitário Maurício de Nassau – Departamento de Nutrição
Recife-PE
http://lattes.cnpq.br/6261623126577099

**Yanna de Jesus Carneiro**
Universidade da Amazônia (Unama) – Curso de Nutrição
Belém-PA
https://orcid.org/0000-0001-9727-518X

**Ariele Milet do Amaral Mercês**
Centro Universitário Maurício de Nassau – Departamento de Nutrição
Recife-PE
http://lattes.cnpq.br/0794360151361231

**RESUMO**: O consumo de refeições nutricionalmente balanceadas influi diretamente sobre a saúde e a produtividades dos trabalhadores, sendo assim, em 14 de abril de 1976, a partir da Lei nº 6.321, foi criado o Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT), o qual tem como objetivo a promoção de saúde e a prevenção de doenças por meio do fornecimento de alimentos saudáveis aos trabalhadores de baixa renda, cuja remuneração seja inferior a cinco salários mínimos mensais. Desta maneira, este trabalho tem como intuito fazer uma síntese dos estudos científicos que avaliaram a adequação nutricional das refeições servidas aos parâmetros preconizados pelo PAT, a fim de verificar a saudabilidade das preparações fornecidas aos trabalhadores. A pesquisa ocorreu entre os dias 13 e 24 de maio de 2021, em diferentes bases de dados, e os termos livres utilizados foram: “Avaliação de cardápio pelo PAT”, “Programa de Alimentação do Trabalhador” e “Adequação nutricional PAT”. Os estudos, em geral, mostraram que as refeições continham elevado valor calórico e quantidades desequilibradas de macro e micronutrientes, além de baixa oferta de frutas, verduras e legumes. Portanto, conclui-se que as incongruências dos cardápios em relação aos objetivos e recomendações do PAT contribuem para a incidência de estado nutricional inadequado entre os trabalhadores.

**PALAVRAS - CHAVE:** Alimentação saudável. Programa de Alimentação do Trabalhador. Adequação nutricional. Planejamento de cardápio.

## EVALUATION QUANTITATIVE AND QUALITATIVE OF NUTRITIONAL ADEQUACY OF MEALS OFFERED TO THE WORKERS CONTEMPLATED BY WORKER FEEDING PROGRAM: A LITERATURE REVIEW

**ABSTRACT**: The consumption of nutritionally balanced meals directly influences the health and productivity of workers, therefore, on April 14, 1976, from the Law No. 6.321, the Worker’s Food Program (PAT) was created, which aims to promote health and disease prevention by providing healthy foods to low-income workers, whose pay is less than five minimum wages

per month. Thus, this work aims to make a synthesis of scientific studies that evaluated the nutritional adequacy of meals served to the parameters recommended by PAT, in order to verify the healthiness of the meals provided to workers. The search occurred between May 13 and 24, 2021, in different databases, and the free terms used were: “PAT Menu Evaluation”, “Worker Feeding Program”, and “PAT Nutritional Adequacy”. The studies, in general, showed that the meals contained high caloric value and unbalanced amounts of macro and micronutrientes, besides the low supply of fruits and vegetables. Therefore, it is concluded that the inconsistencies of menus in relation to the PAT’s objectives and recommendations contribute to the incidence of inadequate nutritional status among workers.
**KEYWORDS:** Healthy eating. Worker Feeding Program. Nutritional adequacy. Menu planning.

## 1 I INTRODUÇÃO

A fim de garantir a segurança alimentar e nutricional da população brasileira e contribuir para o cumprimento do direito humano a alimentação adequada e saudável, foram criadas, em parceria com a sociedade civil organizada, políticas, planos, ações e programas que possibilitem a equidade no acesso aos alimentos, assim, com o intuito de promover saúde e prevenir agravos entre os trabalhadores, principalmente entre os de baixa renda, surge o Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). (MENDES, G. M.; OLIVEIRA, T. C.; 2015)

Instituído pela Lei nº 6.321, de 14 de abril de 1976 (BRASIL,1976), regulamentado pelo Decreto nº 5, de 14 de janeiro de 1991 (BRASIL, 1991) e, atualmente, sob tutela do Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho, da Secretaria de Inspeção do Trabalho, o programa desponta com a proposta de beneficiar Estado, empresas e trabalhadores.

Onde para o trabalhador, pela melhoria de suas condições nutricionais e de qualidade de vida; o aumento de sua capacidade física; o aumento de resistência à fadiga; o aumento de resistência a doenças; e pela redução de acidentes de trabalho. Ao empregador pelo aumento da produtividade na empresa; maior integração entre trabalhador e empresa; redução do absenteísmo; redução da rotatividade; isenção de encargos sociais sobre o valor da alimentação fornecida; e incentivo fiscal. E para o governo por reduzir despesas e investimentos nas áreas da saúde; pelo crescimento da atividade econômica; e pelo bem-estar social resultante de todos esses fatores. (SANTOS et al, 2020).

Ademais, a Portaria Interministerial nº 66/2006 (BRASIL, 2006a), e a Portaria nº 193/2006 (BRASIL, 2006b), atualizaram os parâmetros nutricionais do programa, de modo que a ingestão de calorias, macronutrientes, fibras e sódio fossem adequadas às necessidades dos trabalhadores, sendo que, “utilizam-se dos valores mínimos citados na legislação para trabalhadores que realizam atividades leves e valores máximos estipulados pelo PAT para aqueles que executam serviços mais pesados (produção e braçal) (SANTOS et al., 2020).

Desta maneira, estipulou-se que o almoço, o jantar e a ceia deveram ter de 600 a 800 kcal (ou de 30 a 40% do Valor Energético Total – VET), enquanto que o desjejum e o

lanche deveram conter de 300 a 400 kcal, podendo haver adição de 20% (400 kcal) do VET de 2000 kcal à essas refeições, e o percentual proteico-calórico (NdPCal) das preparações deveria ser de 6 a 10% (BRASIL, 2006a, 2006b).

Ainda, os nutricionistas responsáveis pelas unidades de alimentação e nutrição (UANs), ao planejar o cardápio, deveram buscar oferecer diariamente frutas, verduras e legumes, bem como fornecer alimentação adequada às necessidades fisiopatológicas dos trabalhadores devidamente diagnosticados e realizar ações de educação nutricional, a fim de fomentar práticas alimentares positivas entre os indivíduos (BRASIL, 2006a, 2006b).

Em vista disso, a partir da realização de uma revisão da literatura, este estudo propõe-se a reunir publicações científicas relevantes que dissertem sobre a adequação nutricional da alimentação fornecida aos trabalhadores assistidos pelo PAT, a fim de verificar se as recomendações nutricionais e os objetivos do programa estão sendo corretamente executados.

## 2 I MÉTODO

Elaborado entre os dias 13 de maio e 15 de junho de 2021, este estudo consiste em uma revisão de literatura, para a qual foram selecionadas publicações disponibilizadas na íntegra e gratuitamente nas bases de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Google Acadêmico. E, no intuito de encontrar uma maior quantidade de publicações sobre o assunto em questão, optou-se pela utilização dos seguintes termos livres: "Avaliação de cardápio pelo PAT", "Programa de Alimentação do Trabalhador" e "Adequação nutricional PAT".

Adotou-se como critérios de inclusão de publicações: (1) avaliação de cardápios de UANs direcionadas à produção de refeições para trabalhadores de indústrias ou de empresas inscritas no programa; (2) análise quantitativa e/ou qualitativa dos cardápios; (3) nas análises quantitativas deveriam ser avaliadas a adequação de carboidratos, lipídios e proteínas, pelo menos; (4) publicados entre os anos de 2015 a 2020, nos idiomas inglês, espanhol e português.

A triagem das publicações ocorreu através da leitura dos títulos e dos resumos, onde eram excluídas aquelas que não se adequavam aos critérios anteriormente definidos, apresentavam duplicatas, tinham inconsistências metodológicas ou não eram referentes ao tema proposto. Assim, os artigos foram organizados na planilha do Microsoft Office Excel for Windows 2010 conforme o ano de publicação, sendo identificados por título, autor, objetivo, metodologia, resultados e conclusão.

## 3 | RESULTADOS

Adequaram-se aos critérios pré-estabelecidos 15 artigos, os quais estão explicitados na Tabela 1.

| Autor, Ano | Objetivo do Estudo | Metodologia | Resultados | Conclusões |
|---|---|---|---|---|
| ORO, G. L.; HAUTRIVE, T. P. (2015) | O objetivo da presente pesquisa consistiu em avaliar o cardápio do almoço oferecido à trabalhadores de uma empresa beneficiária do Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT), no município de São Miguel do Oeste – Santa Catarina e verificar se alimentação oferecida está de acordo com os parâmetros nutricionais propostos pelo PAT. | Foi realizada uma pesquisa retrospectiva de 10 cardápios do almoço e quantificado a proporção de macronutrientes, valor calórico total, quantidade total de sódio, fibras alimentares e valor proteico-calórico do almoço servido. A análise dos dados foi por meio da comparação com as recomendações do PAT. | Verificou-se que o valor calórico dos cardápios está adequado, entre 600 a 800 Kcal. Entretanto, porcentagem excessiva de proteínas (21,20%), baixa de carboidratos (49,65%), lipídeos (22,93%) e fibras (6,44%). O sódio também apresentou abaixo das recomendações preconizadas. | Conclui-se haver a necessidade de melhor elaboração dos cardápios, bem como uma avaliação nutricional dos comensais, objetivando melhorias no perfil nutricional de acordo com as necessidades de macronutrientes, levando em consideração os percentuais exigidos pelo PAT, já que o mesmo visa à promoção da saúde do trabalhador. |
| MENDES, G. M.; OLIVEIRA, T. C. (2015) | O objetivo foi avaliar a qualidade nutricional das refeições consumidas por trabalhadores de uma agroindústria, levando em consideração a situação nutricional dos mesmos. | Trata-se de um estudo exploratório, descritivo, transversal com abordagem quantitativa. O estado nutricional dos trabalhadores foi avaliado por meio do índice de massa corporal (IMC), perímetro da cintura (PC) e porcentagem de gordura corporal (%GC). A qualidade da refeição foi analisada por meio do Índice de Qualidade da Refeição (IQR). | A análise dos parâmetros antropométricos evidenciou que as mulheres apresentaram em média maiores valores para IMC, PC e %GC, para além de apresentarem 3,9 vezes mais chances de terem excesso de peso quando comparadas aos colaboradores do sexo masculino. Em relação à refeição, com base no valor médio dos resultados para IQR houve um enquadramento da mesma na categoria “refeição que necessita de melhoria”. O almoço fornecido no local de trabalho apresentava excesso de gordura total e sódio, além de insuficiente oferta de carboidratos. Em relação aos constituintes da cesta básica, também foram observadas inadequações, como o baixo percentual de carboidratos e proteínas, paralelamente à presença excessiva de lipídios e sódio. | As inadequações observadas sinalizam a necessidade de implementação e regulamentação de políticas públicas para a promoção de uma alimentação mais saudável e combate da obesidade. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| LAGEMANN, M. D.; FASSINA, P. (2015) | Avaliou-se a composição nutricional das refeições oferecidas em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma cidade de pequeno porte do Vale do Taquari e verificar sua adequação aos parâmetros nutricionais recomendados pelo Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). | Os nutrientes foram avaliados por meio do per capita dos cardápios do almoço de cinco dias. Foram realizadas estatísticas univariadas descritivas e teste t de Student. | Os macronutrientes, calorias e percentual proteico-calórico (NdPCal%) apresentaram conformidade ao PAT (p>0,05) e os teores de sódio e fibras apresentaram-se acima da determinação (p=0,007 e p=0,002, respectivamente). | Concluiu-se que a composição nutricional dos cardápios da UAN está em conformidade com os parâmetros nutricionais do PAT, porém teores de sódio e fibras devem ser revistos, pois seu consumo excessivo pode contribuir para o aparecimento de problemas de saúde dos trabalhadores. |
| DUARTE, M. S. L. et al. (2015) | O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a qualidade do almoço de uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) segundo as recomendações do Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT) e o Índice de Qualidade da Refeição. | Foi realizado um estudo transversal em uma UAN de uma empresa privada, cadastrada no PAT e com supervisão de um nutricionista. A coleta de dados ocorreu em três dias não consecutivos, para todas as preparações servidas no almoço. | A avaliação do percentual de adequação de energia, sódio, macronutrientes, NDPcal% e fibras excederam as recomendações estabelecidas pelo PAT, enquanto que para o carboidrato o almoço forneceu quantidades abaixo da recomendação. Para o Índice de Qualidade da Refeição, a média encontrada foi de 56,53 pontos e a classificação da refeição foi de que precisa de melhorias. O almoço oferecido pela UAN não estava adequado de acordo com os parâmetros do PAT e o Índice de Qualidade da Refeição. | A alimentação oferecida pela empresa avaliada estava inadequada nutricionalmente e, assim, torna-se necessária a inclusão de ações de correções no planejamento do cardápio bem como de medidas educativas de intervenção alimentar. |
| BATISTA, P. L. et al. (2015) | Avaliar a composição nutricional das refeições servidas em uma Unidade de Alimentação e Nutrição em relação aos parâmetros nutricionais estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador e avaliar os fatores de risco associados às Doenças Crônicas Não Transmissíveis existentes nos beneficiados. | Realizou-se estudo observacional, transversal e descritivo em uma Unidade de Alimentação e Nutrição, localizada em uma empresa do setor de prestação de serviços automotivos, no município de Curitiba-PR, em outubro de 2014. Para a coleta de dados, obtiveram-se informações referentes à composição nutricional das refeições servidas no período do almoço, durante um mês. Realizou-se avaliação antropométrica e aplicou-se um questionário para avaliar o estilo de vida de 19 funcionários da empresa. | Na média geral, o valor energético total (1.311,7 Kcal), proteínas (19%), gorduras totais (32%), fibras (21,14 g), sódio (1828,6 mg) e o percentual proteico-calórico (12%) das refeições estavam acima dos limites estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador. Constatou-se que 53% dos funcionários estavam com sobrepeso, 21% eram fumantes, 58% não praticavam atividade física e 32% apresentavam alguma patologia, sendo o diagnóstico de hipertensão arterial relatado por todos os funcionários. | As refeições servidas na Unidade de Alimentação e Nutrição avaliada estavam inadequadas aos parâmetros estabelecidos para a alimentação do trabalhador, o que pode acarretar prejuízo à saúde dos beneficiários quando associado aos principais fatores de riscos encontrados, como sobrepeso, sedentarismo e prevalência de hipertensão arterial, além do não cumprimento à legislação trabalhista brasileira. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| RESENDE, F. R.; QUINTÃO, D. F. (2016) | Teve como objetivo avaliar o cardápio oferecido a seus trabalhadores através do método de Avaliação Qualitativa das Preparações do Cardápio. | Trata-se de estudo de caso do tipo descritivo, realizado em uma Unidade de Alimentação e Nutrição de autogestão, de empresa privada do município de Leopoldina-MG. | Verificou-se satisfatória oferta de frutas e folhosos em 78,68% e 86,53% dos dias avaliados, respectivamente. Os cardápios estudados apresentaram monotonia de cores e a presença de alimentos ricos em enxofre em 15,38% e 23,08% dos dias analisados, respectivamente. Observou- se elevada oferta de carne gordurosa (28,85%) e de frituras (44,23%) e baixa oferta de doce (19,24%). Houve baixa oferta de doces e frituras em um mesmo dia (6,73%). | O cardápio da UAN analisada apresentou-se adequado em relação à oferta de frutas, folhosos, doces e a harmonia de cores. Em contrapartida, a oferta de frituras, carnes gordurosas e de alimentos ricos em enxofre foi considerada inadequada. |
| PINTO, L. L. A. et al. (2016) | Teve como intuito averiguar a qualidade global do almoço oferecido por duas Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) de duas empresas participantes do Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT), focando sua adequação quanto as calorias ofertadas, macronutrientes, sódio e NdPCal% (Net diary protein calory) do cardápio realizado. | Realizou-se um estudo descritivo e exploratório com o intuito de avaliar os cardápios servidos durante o período de 5 dias, avaliando a adequação do almoço servido de acordo com as diretrizes do PAT. Para o cálculo nutricional, foi utilizado o Programa de Apoio a Nutrição – NutriWin e a Tabela Brasileira de Alimentos (TACO). | Nos dias em que a pesquisa foi realizada, a comida servida apresentou valores energéticos acima do recomendado pelo PAT e em nenhum dia esses valores ficaram próximo ao adequado. | O estudo identificou que os cardápios analisados estavam inadequados, mostrando que, apesar das empresas estarem inseridas no Programa, não foi decisivo para o equilíbrio nutricional, o que leva a um prejuízo à saúde do trabalhador e está em desacordo com o pacto de parceria. |
| DE PAULA, C. L.C; DIAS, J. C. R. (2017) | O objetivo deste estudo foi avaliar o cardápio oferecido, consumo alimentar e estado nutricional dos colaboradores de uma UAN. | Participaram desta pesquisa 50 indivíduos que realizam pelo menos uma de suas refeições na UAN. Foram coletados dados sociodemográficos, antropométricos e dietéticos. Foi realizada análise do cardápio oferecido pela UAN. | Os resultados mostraram que 80% da amostra está acima do peso segundo Índice de Massa Corporal e 86% apresentaram risco para desenvolver doenças cardiovasculares segundo a circunferência da cintura. Verificou-se que os participantes apresentam inadequação do consumo alimentar principalmente quanto aos grupos dos açúcares, frutas, leite e derivados. As análises mostraram que as refeições servidas na empresa apresentam alto valor calórico e desbalanço de macronutrientes. | Diante do exposto, pode-se dizer que o consumo de alimentos na empresa pode estar influenciando o ganho de peso dos colaboradores e sugere-se que estratégias de educação nutricional sejam propostas junto a esta população para melhorar o seu estado nutricional. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| SALVETTI, L. H.; POSSA, G. (2017) | Avaliar a qualidade das refeições oferecidas em uma Unidade de Alimentação e Nutrição cadastrada no Programa de Alimentação do Trabalhador. | Do total de cardápios fornecidos, foram selecionados 30% (71 cardápios) por meio de sorteio sistemático. Os mesmos foram avaliados quanto a sua oferta energética e dos nutrientes carboidratos, proteínas, gorduras totais e saturadas, fibra e sódio. Os valores encontrados foram comparados com os parâmetros estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador | Observou-se inadequação na oferta energética, a qual ficou em média 60kcal superior ao limite recomendado, e na contribuição energética da proteína (19% vs 15%, este último valor referente à recomendação do Programa de Alimentação do Trabalhador). Em relação à oferta de fibras e sódio, também foram encontrados valores acima da recomendação, no entanto, não foi observado inadequação na oferta de carboidratos, gorduras totais e gorduras saturadas. | No presente estudo, a oferta de macro e micronutrientes mostrou-se inadequada em relação aos parâmetros estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador. |
| BALESTRIN, M. B.; CARLESSO, L. C.; XAVIER, A. A. (2018) | Objetivou-se com esse estudo avaliar o cardápio do almoço oferecido à trabalhadores beneficiários pelo Programa de Alimentação do Trabalhador de um frigorífico situado no município de Campos Novos – Santa Catarina. | Para isso foi realizado o cálculo de 25 cardápios consecutivos do almoço e jantar, analisando o valor calórico total, quantidade de macronutrientes, gorduras saturadas, total de sódio e fibras. | Verificou-se que o valor dos nutrientes oferecidos aos trabalhadores está em sua maioria inadequados, exceto a oferta de proteínas, que está dentro do valor estabelecido pelo programa. | O objetivo principal do programa é fornecer uma alimentação adequada visando a melhora do estado nutricional dos trabalhadores, desta forma nota-se com o presente estudo que seus objetivos não estão sendo alcançados. Sendo assim faz-se necessária uma fiscalização mais rígida e atuante do PAT nas Unidades de Alimentação vinculadas para que haja uma adequação na elaboração dos cardápios. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| LEONHARDT, M. B.; KERBER, M.; FASSINA, P. (2019) | Analisar qualitativamente as preparações dos cardápios de duas Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) inseridas no Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, por meio do método AQPC. | Estudo transversal quantitativo descritivo realizado em março de 2017 em duas UANs, A e B, prestadoras de serviços de alimentação coletiva em um mês de cardápio (23 dias). O método AQPC avaliou a presença de fritura, carne gordurosa, folhosos como salada, preparações ricas em enxofre, doce e fruta, como sobremesa, doce e fritura no mesmo dia, monotonia de cores e repetição das preparações. Os resultados foram classificados em "Ótimo", "Bom", "Regular", "Ruim" e "Péssimo". | Na UAN A observou-se oferta de frutas e folhosos todos os dias, 100% (n=23), sobremesa doce, 83% (n=19), preparações ricas em enxofre, 74% (n=17), frituras, 61% (n=14), doce e fritura, 43% (n=10) e carne gordurosa, 13% (n=3) dos dias. Verificou-se monotonia de cores, 43% (n=10) dos dias e repetição de preparações todas as semanas, 100% (n=5). Já a UAN B, ofereceu frutas, 100% (n=23), folhosos, 87% (n=20), sobremesa doce, 100% (n=23), preparações ricas em enxofre, 26% (n=6), frituras, 78% (n=18), doce e fritura, 78% (n=18), e carne gordurosa, 4% (n=1) dos dias. Verificou-se monotonia de cores em 56% (n=13) dos dias e repetição de preparações, 80% (n=4) das semanas. Assim, a UAN A obteve critérios positivos classificados como ótimo (n=2) e bom (n=1) e critérios negativos entre regular (n=2), ruim (n=2) e péssimo (n=2). A UAN B obteve critérios positivos, ótimo (n=2) e bom (n=1), e negativos, regular (=1), ruim (n=1) e péssimo (n=4). | Os cardápios apresentaram-se adequados quanto a oferta de frutas, folhosos e carnes gordurosas, mas alta frequência de doces como sobremesa, frituras, doce e fritura no mesmo dia e repetições de preparações. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| PARIZOTTI, S. M. D.; MARTINS, A. H. (2019) | Analisar as fichas técnicas de preparação padronizadas por Unidades de Alimentação e Nutrição de uma empresa para avaliar se os valores nutricionais planejados para os cardápios oferecidos aos colaboradores estão em conformidade com os parâmetros nutricionais estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). | O desenvolvimento se dará em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN), e 5 de suas filiais, localizadas em diferentes estados do Brasil. Verificando se os parâmetros nutricionais estabelecidos pelo PAT estão de acordo com o programa através de fichas técnicas de preparação padronizadas. As FTPs foram baseadas nas tabelas TACO, IBGE, USDA, Sonia Tucunduva, sendo estas encontradas no software online DIETBOX. Outros dados analisados foram obtidos por média para averiguação. Ao final, todos os resultados foram verificados e submetidos à comparação com bibliografias condizentes ao PAT. | Verificou-se que em média, Calorias (kcal) ficou 1328,21; %Carboidrato 52,44; %Proteína 19,76; %Gorduras Totais 27,21; Fibra Alimentar (g) 17,13; Sódio (mg) 1724,27, além do percentual em relação ao atendimento dos parâmetros dentre todas as unidades, sendo: %KCAL 0%; %CHO 35%; %PTN 15%; %GT 68%; %FIB 5%; %NA 12,5%, mostrando que boa parte dos quesitos estão em desacordo. | Observou-se que é preciso fazer adequação dos cardápios em relação aos seus nutrientes para que estes possam estar nos parâmetros abordados pelo PAT, a fim de garantir aumento do rendimento de trabalho, assim como, alcançar o objetivo principal, que é a saúde dos colaboradores. |
| DE SOUZA, E. D.; SCHNEIDER, C. M. A.; WEIS, G. C. C. (2020) | O objetivo do estudo foi avaliar quantitativamente e qualitativamente o cardápio oferecido em um serviço de alimentação e nutrição de uma empresa privada da região noroeste do Rio Grande do Sul (RS). | Foi avaliado o cardápio do almoço de dez dias alternados, nos meses de novembro e dezembro no ano de 2019. A composição nutricional média do cardápio foi comparada com os critérios estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). Enquanto que a avaliação qualitativa foi realizada utilizando o método AQPC e, a partir da frequência de oferta no cardápio, os itens foram classificados como "ótimo", "bom", "regular", "ruim" ou "péssimo" | O cardápio apresentou valor energético médio adequado (1007,92 ± 132,74 kcal), no entanto, não atendeu as recomendações do PAT, possuindo perfil hipoglicídico, hiperproteíco e hiperlipídico. A quantidade de sódio presente foi superior a ingestão diária recomendada (2437 ± 98,13 mg). A oferta de fibras mostrou-se satisfatória com elevada oferta de folhosos e frutas (n=10, 100%, "ótimo"). A presença de frituras, bem como sua associação com doces, e a monotonia de cores das preparações foram classificadas como "bom". Em contrapartida, a elevada oferta de doces, carnes gordurosas e alimentos ricos em enxofre, foram classificados como "péssimo". | O cardápio analisado na UAN apresenta inadequações, em ambos os aspectos, que podem vir a repercutir na condição de saúde dos trabalhadores. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| CARNEIRO, M. E. D. (2020) | Avaliar a qualidade das preparações de um cardápio de uma Unidade de Alimentação e Nutrição Terceirizada na cidade de Goianira, em Goiás, pelo método AQPC. | Trata-se de um estudo de caso do tipo descritivo, que foi realizado nos meses de maio a outubro de 2020, em uma UAN terceirizada na cidade de Goianira-GO. Foram analisados os cardápios de padrão médio, de segunda a sexta referente ao almoço servido aos funcionários da indústria. | Ao realizar a análise observou-se 100% dos dias a indústria ofertou folhosos, classificado como "ótimo". As frutas foram ofertadas em 21% dos dias, pois era ofertado como sobremesa de 15 em 15 dias, e as vezes como guarnição, classificado como "péssimo". As cores iguais observaram-se em 95% dos dias, classificado como "péssimo". Os alimentos ricos em enxofre, doces, frituras, frituras + doces observou-se a oferta em 100% dos dias, classificado como "péssimo". As Carnes Gordurosas observaram-se 45% dos dias, classificado como "regular". | Os resultados da avaliação do cardápio indicam alta oferta de folhosos e baixa oferta de frutas diariamente na UAN. Entretanto, a alta oferta de alimentos ricos em enxofre, monotonia de cores, doces, frituras, frituras associadas aos doces indicam como "péssimo" e a alta oferta de carnes gordurosas como "regular", com isso tem necessidade de ajuste dos cardápios, para melhorar os aspectos nutricionais e sensoriais. |
| GUILHERME, R. C. et al. (2020) | Objetivo deste artigo é avaliar o Programa de Alimentação do Trabalhador sob a ótica de gestores, nutricionistas e a alimentação oferecida em indústrias da Região Metropolitana do Recife. | Trata-se de um estudo transversal. Foi aplicado questionário estruturado com 40 gestores e 40 nutricionistas acerca dos seus conhecimentos sobre o programa e o cumprimento das atribuições exigidas por ele. Também foi avaliada a qualidade nutricional dos cardápios. | Entre os gestores e os nutricionistas, 22,5% e 72,5% não sabiam do cadastro no programa e das suas exigências nutricionais, respectivamente. Grande parte dos nutricionistas e gestores relacionou o programa a uma exigência da legislação trabalhista. Nenhum respondente conhecia a obrigatoriedade de ações de educação alimentar e nutricional, mesmo assim, 55% dos serviços realizavam ações educativas e 25% realiza avaliação nutricional dos trabalhadores. Observou-se que apesar da oferta de bebidas naturais, frutas e folhosos diariamente, também há oferta diária de diversos produtos ultraprocessados, principalmente doces e bebidas artificiais. | O estudo evidenciou o pouco conhecimento dos gestores e dos nutricionistas sobre os objetivos do programa bem como a sua insipiente execução. |

**Tabela 1.** Compilado dos estudos que obedeceram aos critérios de inclusão.

**Fonte:** Elaborada pelos autores com base na pesquisa, 2021.

## 4 I DISCUSSÃO

De acordo com o apresentado na Tabela 1, de maneira geral, em todas as avaliações, sejam de natureza quantitativa ou qualitativa, foram encontradas inadequações nutricionais que estão associadas ao risco de desenvolver desnutrição ou obesidade e outras doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs).

Oro e Hautrive (2015), ao avaliar a quantia dos nutrientes que compunham o almoço dos funcionários, encontraram valor calórico médio (795,95 kcal) adequado aos parâmetros do PAT, mas também, baixas quantidades de carboidratos, lipídeos, fibras e sódio, e grande percentual de proteínas. A porcentagem elevada de proteínas e insuficiente de carboidratos também se repetiu nos trabalhos de Duarte et al. (2015) e De Souza, Schneider e Weis (2020).

Além disso, Lagemann e Fassina (2015) observaram excessivas quantidades de sódio e fibras nas refeições, semelhante à Salvetti e Possa (2017). Outro achado significativo é a abundante oferta de lipídeos, consoante os estudos de Pinto et al. (2016), Balestrin, Carlesso e Xavier (2018), e Parizotti e Martins (2019).

A averiguação qualitativa de Resende e Quintão (2015) mostrou que, apesar da oferta adequada de frutas e hortaliças, o cardápio da UAN também carece de diversidade de cores e contém valor excessivo de carnes gordurosas, de frituras e de alimentos ricos em enxofre. O trabalho de Leonhardt, Kerber e Fassina (2019) teve resultado parecido, nas refeições averiguadas prevaleciam monotonia de cores, texturas e sabores, além de serem ricas em enxofre, fritura e açúcar. Já a pesquisa elaborada por Carneiro (2020) constatou que o cardápio era monótono, disponibilizava insuficiente quantidade de frutas e excedia a recomendação para frituras, doces, carnes gordurosas e alimentos ricos em enxofre.

Por isso, ainda que o nutricionista seja o profissional mais capacitado para promover práticas alimentares adequadas, saudáveis e sustentáveis, aqueles que eram os responsáveis técnicos das UANs, ao oferecerem preparações com excesso de gordura, sódio e alimentos industrializados, acabam contribuindo para o fortalecimento do atual cenário epidemiológico e nutricional do país.

A análise antropométrica realizada por Mendes e Oliveira (2015) revelou que, no grupo G1 (atuam no setor administrativo), 48,5% apresentavam um excessivo índice de massa corporal (IMC), 43,2% estavam com o perímetro da cintura (PC) elevado e o percentual de gordura corporal (%GC) indicou obesidade em 40,5% deles. Já, entre o grupo G2 (atuantes no setor agropecuário), pelo cálculo do IMC 55,92% estavam com excesso de peso, 44,1% estavam com o PC grande e a avaliação da %GC mostrou que 29% estavam com obesidade. Ademais, os estudos Batista et al. (2015) e De Paula e Dias (2017) também evidenciaram alta prevalência de sobrepeso entre os trabalhadores, cerca de 53% e 80%, respectivamente.

E, embora políticas públicas de saúde e administração de UANs sejam tópicos

curriculares comuns a todos os cursos de graduação em nutrição reconhecidos pelo Ministério da Educação (MEC, 2001), o estudo de Guilherme et al. (2020) mostra que 72,5% dos nutricionistas entrevistados não conheciam os pormenores do programa, evidenciando a deficiência de aprendizado destes profissionais sobre as principais políticas alimentares e nutricionais em vigor no Brasil.

Contudo, vale ressaltar, as inadequações nutricionais das preparações servidas aos trabalhadores também são resultado de um contexto produtivo problemático. Santos et al. (2020), ao analisar as dificuldades enfrentadas por nutricionistas que atuam em UANs vinculadas ao PAT, chegaram à conclusão que a sobrecarga de tarefas (responsabilidade nutricional e administrativa), a baixa quantia disponibilizada para produzir as refeições e valorização dos benefícios ficais para as empresas em detrimento da situação de saúde do trabalhador, configuram-se como os principais entraves à produção de uma alimentação saudável.

## 5 I CONCLUSÕES

Portanto, percebe-se que a alimentação é um elemento importante nos processos de saúde-doença, por isso, cabe ao nutricionista fomentar, integrar e protagonizar políticas, planos, ações e programas que, ao serem implementados, possam atuar na manutenção de saúde da população, porém, antes, é necessário que lhe sejam dados meios para executar o seu trabalho com eficiência.

Na área da alimentação coletiva direcionada ao PAT, a falta de capacitação, a sobrecarga de tarefas, baixo investimento na produção de refeições saudáveis e desvalorização dos benefícios do programa à saúde dos trabalhadores são alguns dos fatores que impedem a concretização dos objetivos do PAT, e que resultam, consequentemente, em indivíduos do sexo masculino assistidos pelo programa terem maior propensão a desenvolver síndrome metabólica e problemas cardiovasculares, devido à alta incidência de excesso de peso e elevado perímetro abdominal (PA).

A partir deste estudo, conclui-se que, mesmo que a UAN esteja credenciada ao PAT e um nutricionista seja o responsável pelo planejamento e gerenciamento de suas atividades, é necessário haver fiscalização regular nas unidades, por parte do poder público, de modo a evitar a ocorrência de inadequações alimentares e nutricionais.

## REFERÊNCIAS

BALESTRIN, M. B.; CARLESSO, L. C.; XAVIER, A. A. Análise quantitativa e qualitativa do cardápio oferecido aos funcionários beneficiados pelo Programa de Alimentação do Trabalhador-PAT em um frigorífico situado em Campos Novos – Santa Catarina. **Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Videira**, Videira, v. 3, n. 19228, 2018.

BATISTA, P, L.; STANGARLIN, L.; MEDEIROS, L. B. et al. Refeições servidas em Unidade de Alimentação e Nutrição: uma avaliação da saúde dos trabalhadores. **Rev. Bras. Promoç. Saúde**, Fortaleza, v. 28, n. 4, p. 578-586, out./dez. 2015.

BRASIL. Conselho Nacional de Educação. Câmara de Educação Superior. Resolução CNE/CES nº5, de 7 de novembro de 2001. Institui diretrizes curriculares nacionais do curso de graduação em nutrição. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção 1, p. 39, 2001.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Lei nº 6.321, de 14 de abril de 1976. Dispõe sobre a dedução, do lucro tributável para fins de imposto sobre a renda das pessoas jurídicas, do dobro das despesas realizadas em programas de alimentação do trabalhador. **Diário Oficial da União**, Brasília, v. 1, p. 4895, 1976.

______. Ministério do Trabalho e Emprego. Decreto nº 5, de 14 de janeiro de 1991. Regulamenta a Lei n° 6.321, de 14 de abril de 1976, que trata do Programa de Alimentação do Trabalhador, revoga o Decreto n° 78.676, de 8 de novembro de 1976 e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, v. 1, p. 1058, 1991.

______. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria Interministerial nº. 66, de 25 de agosto de 2006. Altera os parâmetros nutricionais do Programa de Alimentação do Trabalhador - PAT. **Diário Oficial da União**, Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego, 2006a.

______. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria nº 193, de 05 de dezembro de 2006. Altera os parâmetros nutricionais do Programa de Alimentação do Trabalhador – PAT. **Diário Oficial da União**, Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego, 2006b.

CARNEIRO, M. E. D.; FORTUNATO, G. J. G. M. **Avaliação qualitativa das preparações do cardápio de uma Unidade de Alimentação e Nutrição terceirizada**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Escola de Ciências Sociais e de Saúde, Curso de Nutrição. Goiás, p. 16, 2020.

DE PAULA, C. L. C.; DIAS, J. C. R. Avaliação do consumo alimentar e perfil nutricional de colaboradores atendidos por uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN). **Revistas Nutricionais Online**, v. 1, n. 1, p. 11-20, 2017.

DE SOUZA, E. D.; SCHNEIDER, C. M. A.; WEIS, G. C. C. Avaliação quantitativa e qualitativa do cardápio de uma unidade de alimentação e nutrição da região noroeste do Rio Grande do Sul. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 21, n. 2, p. 127-139, 2020.

DUARTE, M. S. L.; DA CONCEIÇÃO, L. L.; CASTRO, L. C. V. et al. Qualidade do almoço de trabalhadores segundo o Programa de Alimentação dos Trabalhadores e o Índice de Qualidade da Refeição. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 654-661, 2015.

GUILHERME, R. C.; CANUTO, R.; CLARCK, S. G. F. et al. Alimentação do trabalhador: uma avaliação em indústrias no nordeste do Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 10, p. 4013-4020, 2020.

LAGEMANN, M. D.; FASSINA, P. Avaliação da composição nutricional de refeições oferecidas em uma unidade de alimentação e nutrição. **Caderno Pedagógico**, Lajeado, v. 12, n. 1, p. 36-45, 2015.

LEONHARDT, M. B.; KERBER, M.; FASSINA, P. Análise qualitativa das preparações do cardápio de duas unidades de alimentação e nutrição. **Arch. Health. Sci.**, v. 26, n. 3, p. 152-157, out.-dez. 2019.

MENDES, G. M.; OLIVEIRA, T. C. Caracterização socioeconômica, antropométrica e avaliação da qualidade da alimentação de trabalhadores de uma agroindústria da região do Alto Parnaíba-MG. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia,** v. 3, n. 4, p. 11-19, 2015.

ORO, G. L.; HAUTRIVE, T. P. Avaliação do cardápio do almoço oferecido à trabalhadores atendidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador. **e-Scientia**, Belo Horizonte, v. 8, n. 1, p. 01-07, 2015.

PARIZOTTI, S. M. D.; MARTINS, A. H. Fichas técnicas de preparação como subsídio para elaboração de cardápios em concordância com parâmetros abordados pelo PAT em unidades de Alimentação e Nutrição. **Fag Journal of Health**, v. 1, n. 1, p. 37-49, 2019.

PEREIRA, G. S. **Risco de síndrome metabólica em trabalhadores de indústrias de transformação vinculadas ao Programa de Alimentação do Trabalhador**. Tese (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Natal, p. 64, 2020.

PINTO, L. L. A.; DUARTE, R. M.; GUEDES, R. L. A. et al. Avaliação da adequação do almoço de duas empresas ao Programa de Alimentação do Trabalhador. **Nutrição Brasil**, v. 15, n. 4, p. 184-190, 2016.

RESENDE, F. R.; QUINTÃO, D. F. Avaliação qualitativa das preparações do cardápio de uma unidade de alimentação e nutrição institucional de Leopoldina-MG. **Demetra**, v. 11, n. 1, p. 91-98, 2016.

SALVETTI, L. H.; POSSA, G. Programa de Alimentação do Trabalhador e qualidade nutricional das refeições. **Ciência & Saúde**, v. 10, n, 1, p. 23-27, jan.-mar. 2017.

SANTOS, J. M. et al. Dificuldades enfrentadas pelos nutricionistas atuantes no âmbito do Programa de Alimentação do Trabalhador. **Revista Nutrir**, v. 1, n. 13, jan.-jul. 2020.

# CAPÍTULO 17

## AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE RESTO INGESTÃO E SOBRAS SUJAS EM UMA UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO HOTELEIRA LOCALIZADA EM MACEIÓ/AL

*Data de aceite: 01/08/2021*

**Júlia Mayara Correia de Farias**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**Maria Carolina de Melo Lima**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**Carla Beatriz Martins da Silva**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**Maria Augusta Tenório Ferreira**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**Eliane Costa Souza**
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

**RESUMO:** A avaliação de índices, como sobras sujas e restos, é de grande relevância no gerenciamento de um serviço de alimentação, pois sabe-se que tais índices servem de avaliação de desperdício em uma Unidade de Alimentação e Nutrição. Esta pesquisa teve como objetivo verificar o índice de sobras e restos alimentares como fatores indicadores de desperdício em uma unidade de alimentação hoteleira localizada em Maceió/AL. Para obtenção dos valores da quantidade de alimentos distribuídos realizou-se a pesagem do alimento na cuba, descontando o peso das cubas. Para encontrar os valores das sobras não aproveitáveis (sobras sujas), pesaram-se os alimentos que restaram no balcão de distribuição antes de serem descartados, descontando então o peso das cubas. O mesmo procedimento foi adotado para obtenção dos valores do resto-ingestão, ou seja, pesaram-se os rejeitos de alimentos desprezados pelos comensais no cesto de lixo localizado no refeitório, desconsiderando as partes não comestíveis como ossos e cascas de frutas. Os resultados mostraram que a média das sobras foi de 28,15% e a dos restos de 7,03%, o que é considerado inadequado por determinadas literaturas. Em média, 45 pessoas poderiam ser alimentadas com o desperdício gerado pela Unidade. Concluiu-se com a presente pesquisa que o desperdício no local é considerado elevado de acordo com a literatura, ocasionando custos desnecessários ao estabelecimento.

**PALAVRAS - CHAVE:** Alimentação. Desperdício. Serviços de alimentação.

## EVALUATION OF THE INDEX OF REST INGEST AND DIRTY LEFTOVERS IN A HOTEL FOOD UNIT LOCATED IN MACEIÓ/AL

**ABSTRACT:** The evaluation of indexes, such as dirty leftovers and remains, is of great relevance in the management of a food service, because it is known that such indexes serve as a waste assessment in a Food and Nutrition Unit. This research aimed to verify the index of leftovers and food waste as indicators of waste in a hotel food unit located in Maceió/AL. To obtain the values of the amount of food distributed, the food was weighed in the vat, depending on the weight of

the vats. To find the values of the non-usable leftovers (dirty leftovers), the remaining food was weighed in the distribution counter before being discarded, then decounting the weight of the vats. The same procedure was adopted to obtain the values of the rest-ingestion, that is, the discards of foods discarded by the diners in the waste basket located in the cafeteria were weighed, disregarding the inedible parts such as bones and fruit peels. The results showed that the mean of the leftovers was 28.15% and that of the remains of 7.03%, which is considered inadequate by certain literatures. On average, 45 people could be fed the waste generated by the Unit. It was concluded with the present research that the waste on site is considered high according to the literature, causing unnecessary costs to the establishment.
**KEYWORDS:** Feeding. Waste. Food services.

## 1 I INTRODUÇÃO

Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) é o local voltado para a preparação e fornecimento de refeições equilibradas em nutrientes de acordo com o perfil da clientela atendida. As preparações deverão ser realizadas de acordo com as normas higiênico-sanitárias estabelecidas pela legislação (RICARTE et al., 2008).

Resto é a quantidade de alimentos devolvida no prato ou bandeja pelo cliente, é um indicativo de desperdício no restaurante e deve ser avaliado não somente do ponto de vista econômico, como também da falta de integração com o cliente. O tamanho do prato ou a quantidade e tamanho das vasilhas utilizadas podem induzir os clientes a se servirem de uma quantidade maior que a possibilidade de consumo e, consequentemente, gerar restos. Talheres e pegadores podem interferir na quantidade que a pessoa se serve, dependendo do tamanho e menor ou maior funcionalidade dos mesmos (AUGUSTINI et al, 2008).

O desperdício pode envolver os alimentos que não foram utilizados, preparações prontas que não chegam a ser distribuídas e ainda os alimentos que sobram nos pratos dos clientes (RICARTE et al., 2008).

Evitar o desperdício também significa aumentar a rentabilidade da UAN, pois os restos alimentares trazem em si uma parcela dos custos de cada etapa da produção: custos de matéria-prima, tempo e energia, da mão-de-obra e dos equipamentos envolvidos (CORRÊA et al., 2006).

Quantidades significativas de restos de alimentos justificam a importância do gerenciamento do controle de desperdício onde a produção de grandes quantidades de restos de alimentos tem repercussão ética e econômica, apresentando reflexos negativos para toda sociedade, pois estes gastos poderiam ser direcionados para ações cidadãs, além da preocupação com a responsabilidade ambiental (MARTINS; EPSTEIN; OLIVEIRA, 2006).

Entende-se que o equilíbrio entre as necessidades nutricionais e os custos da dieta pode ser garantido pelo planejamento do cardápio, através da sazonalidade, quantidade a ser adquirida e tipos de alimentos a serem utilizados (NONINO-BORGES et al., 2006).

O controle de resto ingestão visa avaliar a adequação das quantidades preparadas

em relação às necessidades de consumo (sobras), o porcionamento na distribuição e a aceitação do cardápio através dos alimentos devolvidos pelos clientes (RICARTE et al., 2008), funcionando como um indicador da qualidade da refeição servida, além de auxiliar a definir o perfil da clientela atendida (RIBEIRO, 2002).

O Objetivo deste trabalho foi analisar o percentual resto-ingestão e sobra alimentar (suja) de uma unidade de alimentação hoteleira localizada na cidade de Maceió/AL.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODO

O estudo foi realizado em um serviço de alimentação de uma unidade hoteleira situada na cidade de Maceió – AL, fornecendo diariamente em média 68 refeições. Destas, em média 19 refeições/dia são exclusivamente servidas no jantar, pelo serviço tipo self-service em balcões térmicos através de empresa terceirizada que transporta as refeições e utiliza uma copeira para realizar o porcionamento de todas as preparações. A coleta de dados foi realizada durante sete dias (segunda a domingo) sendo escolhido o jantar por se tratar da refeição onde os pesquisadores estariam presentes para realizar a coleta. Em relação ao cardápio, ele é composto por: duas ou três opções de pratos proteicos, dois ou três tipos de acompanhamentos e duas opções de bebida.

Para obtenção da quantidade de alimentos disponibilizados nos balcões de distribuição e resto-ingestão, foi utilizada uma balança digital em inox da marca Toledo®, com capacidade máxima de 15 Kg e precisão de 0,04 Kg. As fórmulas utilizadas estão apresentadas no Quadro 1.

Os valores da quantidade de alimentos distribuídos realizou-se a pesagem de todo alimento levado para o balcão de distribuição, descontando o peso das cubas. Para encontrar os valores das sobras não aproveitáveis (sobras sujas), pesaram-se os alimentos que restaram no balcão de distribuição antes de serem descartadas, descontando então o peso das cubas.

O mesmo procedimento foi adotado para obtenção dos valores do resto-ingestão, ou seja, pesaram-se os rejeitos de alimentos desprezados pelos comensais no cesto de lixo localizado no refeitório, desconsiderando as partes não comestíveis como ossos e cascas de frutas que foram descartadas separadamente. Assim sendo, os dados foram tabulados em planilhas eletrônicas (Excel 2010), obtendo-se todos os valores encontrados e, para a avaliação dos resultados, utilizaram-se as equações abaixo, conforme citados por VAZ (2006).

| |
|---|
| 1. Refeição Distribuída (Kg) = Preparação levada ao balcão de distribuição – Peso das cubas |
| 2. Consumo de alimentos por refeição = Peso da refeição distribuída/nº de refeições |
| 3. Resto – Ingestão (Kg) = Peso dos alimentos que foram descartados – Peso dos ossos ou cascas de frutas |
| 4. % de Resto – Ingestão = Peso do resto x 100/Peso da refeição distribuída |
| 5. Resto – Ingestão por pessoa (g) = Peso do Resto – Ingestão/ nº refeições |
| 6. Sobra suja (Kg) = Peso dos alimentos que sobraram nas cubas – Peso das cubas |
| 7. % de Sobra suja = Sobra suja x 100/peso da refeição distribuída |
| 8. Sobra suja por pessoa (g) = peso da sobra suja/nº de refeições |
| 9. Total do Desperdício por dia (Kg) = Peso da sobra suja + Peso do Resto – Ingestão |
| 10. Desperdício por pessoa (g) = Total do desperdício/nº de refeições |
| 11. Nº de pessoas que podiam ser alimentadas com o desperdício do dia = Total do desperdício/ consumo de alimento por refeição |

Quadro 1 – Fórmulas utilizadas para avaliação do percentual resto-ingestão e sobra alimentar (suja).

Fonte: VAZ (2006).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, observa-se na Tabela 1, que o per capita de resto ingesta apresentou-se entre 22,94g e 76,84g, gerando uma média de 52g, já o percentual de resto ingesta apresentou-se entre 2,1% e 11,33%, gerando uma média de 7,03%, portanto, os resultados estão superiores ao per capita de 15g a 45g e % de resto - ingestão entre 2 e 5% definidos por VAZ (2006).

| Dias | Nº Pessoas | Quantidade Distribuída (kg) | Resto ingestão (kg) | Resto Ingestão (%) | Resto ingestão p/pessoa (g) |
|---|---|---|---|---|---|
| Segunda | 19 | 12,8 | 1,46 | 11,33 | 76,84 |
| Terça | 19 | 19,8 | 0,80 | 4,05 | 42,31 |
| Quarta | 15 | 14,8 | 1,24 | 8,4 | 82,66 |
| Quinta | 17 | 18,6 | 0,39 | 2,1 | 22,94 |
| Sexta | 21 | 17,7 | 1,46 | 8,24 | 69,52 |
| Sábado | 20 | 16,2 | 0,70 | 4,31 | 35,00 |
| Domingo | 20 | 18,5 | 0,70 | 3,8 | 35,00 |
| Total | 131 | 118,4 | 6,75 | 42,23 | 364,27 |

Tabela 1 – % Resto ingestão e Resto ingestão por pessoa em uma Unidade de Alimentação Hoteleira na cidade de Maceió/AL. Fonte: dados da pesquisa

O resultado encontrado foi diferente do estudo realizado por Augustini et al. (2008) em uma UAN em Piracicaba (SP), que serve em torno de 4800 refeições por dia, entre almoço, jantar e ceia foi encontrado um per capita de resto ingesta entre 40g e 90g.

Segundo Ribeiro (2002) o restaurante presente dentro de empresas, tem como objetivo servir uma alimentação equilibrada para seus colaboradores ou funcionários, gerando maior produtividade, satisfação e saúde dos mesmos.

A empresa que adotar o controle de resto - ingestão, terá como benefício, conseguir averiguar a aceitação do cardápio elaborado e a satisfação dos comensais (ABREU; SPINELLI; PINTO, 2011), servindo para avaliar o planejamento de produção e caso seja necessário implantar medidas, para evitar o desperdício (MOURA, HONAISER, BOLOGNINI, 2009).

Abreu, Spinelli e Pinto (2011) relatam, que se as refeições estiverem bem elaboradas, o resto gerado pelos comensais deverá ter valores muito próximos ao zero. Segundo Mezomo (2014) quando o resultado do percentual de resto ingesta encontrado for superior a 10% (em coletividade sadia) e 20% (em coletividade enferma), pode indicar que os cardápios elaborados estão inadequados quanto ao planejamento e/ou a execução.

A Tabela 02 apresenta os percentuais e as per captas de sobra suja. O per capta de sobra suja, entre 116,63g e 569,10g, gerou uma média de 275g, já o percentual de sobra suja ficou entre 21% e 51,82%, gerando uma média de 28,15%.

Avaliar as sobras diariamente é uma ferramenta de gestão que pode ser utilizada com o objetivo de controlar o desperdício, visto que o aumento do índice do resto alimentar está diretamente ligado ao planejamento inadequado do número de refeições produzidas, preparações incompatíveis com os hábitos alimentares dos comensais e a má aparência ou apresentação das preparações (NEGREIROS; CRUZ.; COSTA, et al., 2009).

| Dias | Quantidade Distribuída (kg) | Sobra suja (kg) | Sobra suja (%) | Consumo por refeição (g) | Sobra Suja p/pessoa (g) |
|---|---|---|---|---|---|
| Segunda | 12,8 | 2,2 | 17,19 | 673,68 | 116,63 |
| Terça | 19,8 | 6,0 | 30 | 1042 | 313,40 |
| Quarta | 14,8 | 4,4 | 29,70 | 987 | 293,06 |
| Quinta | 18,6 | 9,7 | 51,82 | 1094 | 569,10 |
| Sexta | 17,7 | 3,9 | 22,15 | 842 | 231,64 |
| Sábado | 16,2 | 3,4 | 21 | 810 | 169,4 |
| Domingo | 18,5 | 4,6 | 25,21 | 925 | 232,3 |
| **Total** | 118,4 | 34,29 | 197,07 | 6373,68 | 1.925,53 |

Tabela 2 – % Sobra suja e per capta de sobra suja em uma Unidade de Alimentação Hoteleira na cidade de Maceió/AL.

Fonte: dados da pesquisa

Resultados diferentes foram encontrados por Moura, Honaiser e Bolognini (2009) que avaliaram, por sete dias, uma Unidade de Alimentação e Nutrição, onde a média de

sobra por pessoa foi de 60,39 g e o percentual de 10,41%. Os autores relatam que tais valores se devem provavelmente à falta de planejamento de forma eficaz do número das refeições e a apresentação, sabor, e temperatura das preparações disponibilizadas nos balcões de distribuição.

Os resíduos sólidos provenientes dos serviços de alimentação são resultantes do processo de produção e distribuição das refeições. Na etapa da distribuição dos alimentos, esses resíduos gerados são formados pelas sobras sujas e restos alimentares (KINASZ, 2004).

Na Tabela 3, observa-se que a quantidade de resíduo gerada nessa unidade de alimentação, poderia alimentar aproximadamente 45 pessoas, evidenciando a falta de gerenciamento do serviço com consequente, prejuízo financeiro.

| Dias | Nº pessoas | **Quantidade Distribuída (kg)** | **Consumo por refeição (g)** | **Total desperdício (Kg)** | **Nº de comensais que poderiam se alimentar com o Desperdício** |
|---|---|---|---|---|---|
| Segunda | 19 | 12,8 | 673,68 | 3,66 | 5,43 |
| Terça | 19 | 19,8 | 1042 | 6,80 | 6,52 |
| Quarta | 15 | 14,8 | 987 | 5,64 | 5,7 |
| Quinta | 17 | 18,6 | 1094 | 10,1 | 9,23 |
| Sexta | 21 | 17,7 | 842 | 5,36 | 6,36 |
| Sábado | 20 | 16,2 | 810 | 4,10 | 5,0 |
| Domingo | 20 | 18,5 | 925 | 5,30 | 5,72 |
| **Total** | 131 | 118,4 | 6373,68 | 40,95 | 45 |

Tabela 3 – Quantidade de pessoas que poderiam ser alimentadas com o desperdício diário de alimentos em uma Unidade de Alimentação Hoteleira na cidade de Maceió/AL.

Fonte: dados da pesquisa

Nesse sentido, é de extrema importância que os Serviços de alimentação avaliem a quantidade de sobras e restos, visto que o alto percentual de sobras advém de fatores ligados diretamente à cadeia de produção dos alimentos, entre eles, pode citar: planejamento inadequado ao número de clientes e ausência de pesquisa dos hábitos alimentares dos comensais.Porém, um número elevado da quantidade de restos nas bandejas pode significar que o cardápio oferecido não é bem aceito pelo comensal, onde muitas vezes os tipos de preparações são repetitivas, ou não fazem parte do hábito alimentar, ou a apresentação sensorial não é boa e principalmente falta de conscientização do comensal em relação ao desperdício.

## 4 I CONCLUSÃO

Com os resultados apresentados neste estudo, pode-se observar que os índices de restos e sobras encontram-se acima do limite aceitável descrito na literatura e que o desperdício no local é considerado elevado ocasionando custos desnecessários ao estabelecimento. A adoção de medidas que possam implicar na melhoria desses índices, como a diminuição do desperdício, é necessária, visto que, podem gerar lucro para o Serviço de Alimentação.

## REFERÊNCIAS


ABREU, S. E; SPINELLI, N. G. M; PINTO, S. M. A. Gestão de Unidades de Alimentação e Nutrição. 3ª edição. São Paulo: Metha, 2011. 342p.

AUGUSTINI, V. C. M. et al. Avaliação do índice de resto - ingesta e sobras em unidade de alimentação e nutrição (UAN) de uma empresa metalúrgica na cidade de Piracicaba/SP. **Rev. Simbio-Logias**, v.1, n.1, p. 99 – 110, maio. 2008.

CORRÊA, T. A. F. et al. Índice de resto-ingestão antes e durante a campanha contra o desperdício, em uma Unidade de Alimentação e Nutrição. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 110, p. 64-73, 2006.

KINASZ, T. R. **Resíduos sólidos produzidos em alguns serviços de alimentação e nutrição nos municípios de Cuiabá e Várzea Grande – MT: fluxo da produção, destino final e a atuação do nutricionista no contexto**. Dissertação (Mestrado em Geografia) Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 2004.

MARTINS, M.T.S.; EPSTEIN, M.; OLIVEIRA, D.R.M. Parâmetros de controle e/ou monitoramento da qualidade do serviço empregado em uma Unidade de Alimentação e Nutrição. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 142, 2006.

MEZOMO, I. B. **Os Serviços de Alimentação - Planejamento e Administração**. 6ª. ed. Manole, 2014.

MOURA, P. N.; HONAISER, A.; BOLOGNINI, M. C. M. Avaliação do índice de resto ingestão e sobras em uma unidade de nutrição e alimentação (U.A.N.) do colégio agrícola de Guarapuava (PR). **Revista Salus**, v. 3, n. 1, p. 15-22, 2009.

NEGREIROS, A. B.; CRUZ, M. C.; COSTA, V. S. C. Índice de rejeitos em unidade de alimentação e nutrição localizada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 23, n. 176-177, 2009.

NONINO-BORGES, C. B.; RABITOL, E. I; SILVAL, K; FERRAZLL, C. A; CHIARELLOLLL, P. G; SANTOS, L. S; MARCHINIL, J, S. Desperdício de alimentos intra-hospitalar. **Rev. Nutri**., v.19, n°.3, Campinas, maio - jun., 2006.

RIBEIRO, C. S. G. **Análise de perdas em unidades de alimentação e nutrição (UANs) Industriais: Estudo de Caso em Restaurante Industrial.** 128f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

RICARTE, M. P. R; FÉ, M. A. B. M; SANTOS, I. H. V.S; LOPES, A. K. M. Avaliação do desperdício de alimentos em uma unidade de alimentação e nutrição institucional em Fortaleza- CE. **Saber Científico**, Porto Velho, v. 1, n. 1, p.158-175, jan. 2008.

VAZ, C. S. **Restaurantes: controlando custos e aumentando lucros**. Brasília: Editora LGE, 2006, 193p.

## SOBRE O ORGANIZADORA

**CARLA CRISTINA BAUERMANN BRASIL** - Possui graduação em Nutrição pela Universidade Franciscana (2006), especialização em Qualidade de Alimentos pelo Centro Brasileiro de Estudos Sistêmicos (2008), especialização em Higiene e Segurança Alimentar pela Universidad de León (2011), especialização em Vigilância Sanitária e Qualidade de Alimentos (2020), licenciatura pelo Programa Especial de Graduação de Formação de Professores para a Educação Profissional (2013), Mestrado e Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) na linha de pesquisa Qualidade de Alimentos. Atua como docente do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Santa Maria e participa de projetos de pesquisa e extensão na área de ciência e tecnologia de alimentos, com ênfase em sistemas de controle de qualidade de alimentos, microbiologia dos alimentos, análise sensorial de alimentos e legislações sanitárias voltadas a serviços de alimentação e indústria de alimentos.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A



### B



### C



### D



### E

## F



## G



## H



## I



## L



## M



## N



## P

## Q



## R



## S



## T



## U



## V

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

# Alimentos, Nutrição e Saúde 4

Atena Editora
Ano 2021

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

4

# ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE

Atena
Editora
Ano 2021